Aus dem Institut für Anatomie
der
Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin
der
Ruhr-Universität Bochum

Über die Entwicklung der Zungenmuskulatur. Experimentelle Untersuchungen an Wachtel- und Hühnerembryonen.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
der
Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin
der
Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von
Helmut Schemainda
aus Dortmund

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547222_0016

Aus dem Institut für Anatomie
der
Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin
der
Ruhr-Universität Bochum

Über die Entwicklung der Zungenmuskulatur. Experimentelle Untersuchungen an Wachtel- und Hühnerembryonen.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
der
Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin
der
Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von
Helmut Schemainda
aus Dortmund

1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. H-G. Keyl

Referent: Prof. Dr. B. Christ

Korreferent: Prof. Dr. K. Meller

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 10. 1982

		Seite
1.	Einleitung und Fragestellung	3
1.1.	Einteilung und Entwicklung des Muskelsystems	3
1.1.1.	Viscerale Muskulatur	4
1.1.2.	Somatische Muskulatur	6
	- Skizzierung der Somitendifferenzierung	8
	- Histogenese der Skelettmuskulatur	9
1.2.	Die Entwicklung der Zunge	10
1.2.1.	Bisherige Ergebnisse der deskriptiven Untersuchungen	13
1.2.2.	Bisherige Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen	17
1.3.	Fragestellung	19
2.	Material und Methode	23
2.1.	Material	23
2.1.1.	Embryonen	23
2.1.2.	Werkzeuge und Geräte	23
2.1.3.	Chemikalien	24
2.1.4.	Photomaterial	25
2.2.	Methode	26
2.2.1.	Biologische Zellmarkierungstechnik	26
2.2.2.	Operationstechnik	30
2.2.3.	Klassische Lichtmikroskopie	31
	- Fixierung der operierten Embryonen	31
	- Einbettung in Paraplast	32
	- Herstellung der Paraplastschnitte	32
	- Färbung mit der Reaktion nach Feulgen und Rossenbeck	33
	- Mikrophotographie	33
2.2.4.	Semidünnschnittechnik	34
	- Fixierung normaler Embryonen	34
	- Einbettung in Durcupan	34
	- Herstellung und Färbung der Semidünnschnitte	35

3.	Ergebnisse	36
3.1.	Zur Herkunft der Zungenmuskulatur	36
3.1.1.	Musculus hypoglossus obliquus	41
3.1.2.	Musculus hypoglossus rectus	41
3.1.3.	Musculus tracheo-thyreohyoideus	41
3.1.4.	Musculi keratoglossus et keratohyoideus	42
3.2.	Zur Herkunft der ventralen Kopfgelenksmuskulatur und zum Binde- und Stützgewebe im Bereich der Schädelbasis	51
3.3.	Zur Frühentwicklung der Zungenmuskulatur	58
3.3.1.	Stadium 13 H.H.	58
3.3.2.	Stadium 14 H.H.	61
3.3.3.	Stadium 15 H.H.	64
3.3.4.	Stadium 16 H.H.	67
3.3.5.	Stadium 17 H.H.	67
3.4.	Zur regionalspezifischen Entwicklung der Zungenmuskulatur	70
4.	Diskussion und Schlußfolgerungen	73
4.1.	Herkunft der Zungenmuskulatur	73
4.2.	Herkunft der ventralen Kopfgelenksmuskulatur und zum Binde- und Stützgewebe im Bereich der Schädelbasis	77
4.3.	Frühentwicklung der Zungenmuskulatur	79
4.4.	Regionalspezifische Entwicklung der Zungenmuskulatur	83
5.	Zusammenfassung	86
6.	Literaturverzeichnis	88
7.	Danksagung	101
8.	Lebenslauf	102

1. Einleitung und Fragestellung

1.1. Einteilung und Entwicklung des Muskelsystems

Das Muskelgewebe der höheren Vertebraten kann auf Grund unterschiedlicher Strukturierung in drei Arten unterteilt werden: 1.) In Skelettmuskulatur 2.) In glatte Muskulatur 3.) In Herzmuskulatur. Als gemeinsame Eigenschaft besitzen sie die Fähigkeit zur Kontraktilität, da alle 3 Typen in ihren Zellen Myofibrillen enthalten. Zusätzlich zu den Strukturunterschieden ist die quergestreifte Muskulatur im allgemeinen der Kontrolle des Willens unterworfen, während die glatte Muskulatur und die Herzmuskulatur unwillkürlich arbeiten.

Weiterhin läßt sich die Muskulatur nach topographischen und genetischen Gesichtspunkten gliedern, wobei die somatische Muskulatur der visceralen Muskulatur gegenübergestellt wird. Die somatische Muskulatur entsteht größtenteils aus den Somiten (segmentiertes Mesoderm) und bildet den größten Teil der Skelettmuskulatur des Rumpfes und der Extremitäten. Sie wird durch Spinalnerven innerviert. Die viscerale Muskulatur stammt aus der Splanchnopleura (entodermales Blatt des nichtsegmentierten Mesoderm) und liefert neben den Tunicae musculares des Darmrohres und der Hohlorgane auch Muskeln im Bereich des Kopfes und der Schulter. Sie wird durch das autonome Nervensystem und durch Gehirnnerven innerviert.

1.1.1. Viscerale Muskulatur

Die viscerale Muskulatur, die im Gegensatz zur somatischen Muskulatur nicht den Somiten entstammt, sondern aus der Darmwand hervorgeht, wird unter phylogenetischer Betrachtungsweise in die Branchialmuskulatur und in die Muskulatur des Darmrohres und seiner Derivate unterteilt.

Die zunächst teilweise im Dienste des Kiemenapparates stehende Branchialmuskulatur erfährt mit der Neugliederung des gesamten Kiemendarmes beim Übergang zum Landleben entsprechend der neuen Aufgaben wesentliche Umgestaltungen. STARCK (1975).

Die Muskulatur des 1. Visceralbogens (Mandibularbogen) wird zur Kaumuskulatur, zum Musculus mylohyoideus, zum vorderen Digastricusbauch und zu den Musculi tensor tympani und tensor veli palatini. Sie wird durch den Nervus mandibularis innerviert.

Die Muskulatur des 2. Visceralbogens (Zungenbeinbogen) entwickelt sich zur mimischen Muskulatur, zum Musculus stylohyoideus, zum hinteren Digastricusbauch und zum Musculus stapedius. Diese Gruppe wird vom Nervus facialis innerviert.

Die Muskulatur des 3. Visceralbogens, die Musculi stylopharyngeus, glossopharyngeus und die oberen Pharynxkonstriktoren, wird vom Nervus glossopharyngeus innerviert. Die übrige Pharynxmuskulatur und die Kehlkopfmuskulatur wird den Visceralbögen 4 und 5 zugeordnet und vom Nervus vagus versorgt.

Ein Teil der Branchialmuskulatur soll Anschluß an das Rumpfskelett gewinnen (Musculi trapezius, sternocleidomastoideus) und fügt sich funktionell in das System der somatischen Muskulatur ein, wobei diese beiden Muskeln möglicherweise zusätzliches Material aus Somiten erhalten. Mc KENZIE (1955); STARCK (1975).

Die Branchialmuskulatur ist der vordere, die eigentliche Darmmuskulatur der hintere Abschnitt eines visceralen Muskelsystems. Ihrer Struktur nach besteht die Visceralmuskulatur im Bereich des Kopfdarmes (Branchialmuskulatur) beim Säuger bis hin ins zweite Drittel des Oesophagus aus quergestreiftem Muskelgewebe, hingegen findet sich caudal davon in den Tunicae musculares des Darmes nur glattes Muskelgewebe.

1.1.2. Somatische Muskulatur

Die aus den Somiten hervorgehende somatische Muskulatur läßt sich in die Rumpfmuskulatur und in die Extremitätenmuskulatur unterteilen.

Die Muskulatur des Rumpfes bei primitiven Wirbeltieren ist größtenteils segmental längs der beiden Körperseiten in sogenannte Myomeren angeordnet und stellt das anatomische Substrat der typischen schlängelnden Fortbewegungsweise dar. Bei den Fischen entwickelt sich dazu ein horizontales Myoseptum aus Bindegewebe, das die Muskulatur des Rumpfes in zwei Hauptgruppen unterteilt: Die dorsal des Septums liegende "epaxonische Muskulatur" und die "hypaxonische Muskulatur" ventral des Septums. Diese Gliederung bleibt im Prinzip auch bei höheren Vertebraten erhalten, jedoch erfahren die somatischen Muskeln durch das Landleben und durch die Ausbildung paariger Gliedmaßen wesentliche Umbauten. Die epaxonischen Muskeln treten im Rumpf gegenüber den hypaxonischen Muskeln und den Extremitätenmuskeln zurück.

Im Bereich der autochthonen Rückenmuskulatur ist die myomere Gliederung ausschließlich noch an den tiefer liegenden Muskelschichten (Musculi interspinales, Musculi rotatores, kurze Nackenmuskeln) zu erkennen. Die oberflächlichen Schichten vereinigen sich zu langen, durchgehenden Muskelmassen, dem Musculus erector spinae. Die Innervation erfolgt durch dorsale Äste der Spinalnerven.

Die ventro-laterale Rumpfmuskulatur, die als hypaxonische Muskulatur bei den Fischen ventral des horizontalen Myoseptums (bei den Wirbeltieren: Fascia transversalis) liegt, behält bei den Amnioten in Gestalt der segmental angeordneten Musculi intercostales im Thoraxbereich ihren metameren Charakter. Sie verliert ihn aber im Abdominalbereich, wo die queren und schrägen Bauchmuskeln in einer dreilagigen Schichtung angeordnet sind. Das Zwerchfell ist ebenfalls ein Derivat der hypaxonischen Muskulatur. Im Halsbereich entsprechen die Musculi scaleni, Musculi longus capitis und colli der ventralen Rumpfmuskulatur. Die Gruppe der ventralen Rumpfmuskeln wird durch Rami ventrales der Spinalnerven versorgt.

Die Muskulatur der paarigen Gliedmaßen geht beim Huhn, wie die übrige Rumpfmuskulatur aus den Somiten hervor und gehört somit zur somatischen Muskulatur. CHRIST et al. (1974 a, 1974 b, 1977 a, 1977 b, 1978 a, 1980; CHEVALLIER et al. (1976, 1977 a, 1978). In den Anlagen der oberen und unteren Extremität gliedert sich die Muskulatur frühzeitig in Strecker- und Beugerblasteme, aus denen sich im weiteren Entwicklungsverlauf, im Sinne des von SHELLSWELL und WOLPERT (1977 b) beschriebenen "splitting up", die Anlagen der Einzelmuskeln abgliedern.

Auch die Übergangsmuskulatur zwischen Rumpf und oberer Gliedmaße (Musculi pectorales, subclavius, Musculi latissimus, teres major, levator scapulae, rhomboidei, serratus anterior) ist somitischen Ursprungs, wobei eine im Laufe der Stammesgeschichte eingetretene

"sekundäre Verschiebung" zurück auf den Rumpf diskutiert wird STARCK (1975). Im Falle des Musculus pectoralis major konnten BERESFORD et al. (1978) durch experimentelle Untersuchungen an Hühnern zeigen, daß er sich aus den Somiten 16 - 21 entwickelt. Auch CHRIST (1976) bewies, daß die Musculi pectorales somitischen Ursprungs sind, wobei er aus den Ergebnissen seiner Experimente folgern konnte, daß sich die Musculi pectorales aus zwei unterschiedlichen Quellen entwickeln. Die Muskelzellen entstammen dem Segmentplattenmesoderm, die Sehnen, Faszien und das intramuskuläre Bindegewebe geht hingegen aus dem Seitenplattenmesoderm hervor.

Skizzierung der Somitendifferenzierung:

Die beiderseits des Neuralrohrs metamer angeordneten Somiten, die unter anderem das Material für die somatische Muskulatur darstellen, haben sich frühzeitig in kranio-kaudaler Richtung aus dem Stammplattenmesoderm abgegliedert. Der zunächst kugelförmige und epithelial strukturierte Somit differenziert sich in Myotom, Sklerotom und Dermatom, indem zuerst der ventrale Wandabschnitt des Somiten seine epitheliale Struktur verliert und einen mesenchymalen Zellverband bildet, der den Raum zwischen Neuralrohr, Aorta und Chorda dorsalis besiedelt. JACOB et al. (1978, 1979). Dieses als Sklerotom bezeichnete Somitenderivat stellt unter anderem das Anlagematerial für Wirbelsäule und Rippen dar. Der dorsale Anteil der Somitenwand bewahrt zunächst seine epitheliale Struk-

her und wird als Dermatomyotom bezeichnet. Aus ihm geht im weiteren Entwicklungsverlauf unter anderem das Bindegewebe der Haut und der Unterhaut der dorsalen Körperwand hervor. CHEVALLIER et al. (1977 b). An der Basalfläche des Dermatoms entsteht eine weitere Zellplatte mit epithelialer Struktur, das Myotom. Die Zellen des Myotoms nehmen Spindelform an und richten sich parallel zur Körperachse aus. Sie stellen das Anlagematerial für den größten Teil der Muskulatur des Rückens dar und beteiligen sich an der Muskulatur der ventro-lateralen Körperwand. CHRIST et al. (1974 a, 1976, 1978 a, 1980).

Histogenese der Skelettmuskulatur:

Die aus den Myotomen der Somiten stammenden Myoblasten ordnen sich im weiteren Entwicklungsverlauf hintereinander an und ihre in Kontakt stehenden Zellmembranen verschmelzen miteinander, so daß unter Aufnahme von weiteren Myoblasten syncytiale Muskelschläuche entstehen (Myotubenbildung). BOYD (1960); CARLSON (1973). Einige der Myoblasten differenzieren sich nicht weiter und bilden Satellitenzellen, die sich den Muskelschläuchen anlagern. SCHMALBRUCH und HELLHAMMER (1976, 1977). Die differenzierten Myotuben bestehen aus langen Zylindern mit zentralen, reihenförmig orientierten Kernen der frühen Myoblasten, wobei sowohl die Myotuben als auch die Satellitenzellen von der gleichen Basallamina umhüllt werden. SCHMALBRUCH (1980). Einige der Satellitenzellen teilen sich mitotisch weiter und geben Kerne ins Innere der Schläuche ab. KELLY und ZACKS (1969); MOSS und LEBLOND (1971). Die zunächst zentral liegenden Zellkerne wandern während der weiteren Differenzierung zur quergestreiften Muskelfaser an die Oberfläche der Faser. Die noch vorhandenen Satellitenzellen stellen das teilungsfähige Reservematerial der quergestreiften Muskelfaser dar. SCHMALBRUCH (1980).

1.2. Die Entwicklung der Zunge

Die Zunge stellt ein Derivat des frühembryonalen Mundbodens dar. Sie besteht bei den Neunaugen, aus der Klasse der kieferlosen Wirbeltiere, aus einer ventralen, mit Hornzähnen besetzten Verdickung am Eingang zur Mundhöhle.

Bei den meisten Fischen ist die Zunge lediglich eine relativ unbewegliche, schleimhautüberzogene Ausstülpung des Mundbodens, die noch keine Muskulatur enthält.

Die "echte" Zunge ist im wesentlichen eine Bildung der Amphibien und Amnioten, wobei an ihr im Verlauf der Evolution eine Reihe von Variationen und Spezialisationen entstanden sind. Sie wurde zum Sitz zahlreicher Drüsen und Rezeptoren und erhielt durch die Entwicklung von Muskulatur mehr Beweglichkeit.

Trotz der Unterschiede in Struktur, Form und Funktion wird in den einschlägigen Lehrbüchern der Embryologie, zum Beispiel STARCK (1975); PATTEN (1968), die Entwicklung der Zunge bei den einzelnen Wirbeltierklassen in ähnlicher und aufeinander beziehbarer Weise dargestellt.

Als erste sichtbare Anlage der Zunge werden das im entodermalen Mundboden befindliche Tuberculum impar und zwei paarig angeordnete, lateral davon liegende mesenchymale Verdickungen, die sogenannten "lateral lingual swellings" PATTEN (1968) , angesehen. Aus diesen Anlagematerialien entstehen durch eine aboral

ausgerichtete Mesenchymwucherung mit Ausstülpung des Epithels der Zungenrücken und die Zungenspitze. Die Anlage des Zungengrundes wird durch eine kleine mediane Erhebung des Zungenbeinbogens, die copula, repräsentiert. Durch Mesenchymverschiebungen wird jedoch bei der Entwicklung der Zunge eine in jungen Embryonen vergleichsweise noch deutlich sichtbare Abgrenzung und Zuordnung der einzelnen Anlagematerialien erschwert. Dieses spiegelt sich auch in der sich überschneidenden sensiblen bzw. sensorischen Innervation durch den fünften, siebenten, neunten und zehnten Hirnnerven und in ihren früheren Beziehungen zu den einzelnen Visceralbögen wieder.

Die Zunge der Amnioten stellt ein Organ dar, das auf Grund seiner ausgeprägten Eigenbeweglichkeit beim Kauen, Schlucken, Saugen und bei der Stimmmodulation entscheidend mitwirkt. Eine quantitative Analyse ihrer Gewebsbestandteile ergibt, daß die Zunge zu etwa 90 % aus quergestreifter Muskulatur besteht, die in eine Zungenbinnenmuskulatur innerhalb des Zungenkörpers und in eine Zungenaußenmuskulatur, die an den Zungenkörper von außen herantritt, unterteilt werden kann. Ihre außerordentliche Beweglichkeit und Verformbarkeit erhält sie zum großen Teil durch die dreidimensionale Anordnung longitudinaler, transversaler und vertikaler Muskelbündel der Zungenbinnenmuskulatur. Zusätzlich wird die Zunge als Ganzes noch durch Muskelzüge der Außenmuskulatur bewegt.

Das Bindegewebsstroma der Zunge entwickelt sich aus Neuralleistenmaterial. LIÉVRE und LE DOUARIN (1975).

Bei den Aves besteht die Muskulatur innerhalb des Zungenkörpers aus dem Musculus hypoglossus obliquus, der an der Unterfläche des Os basihyoideum des Zungenbeines entspringt und am Seitenrand des Os entoglossum des Zungenbeines endet und dem Musculus hypoglossus rectus, der ventral am Os basihyoideum beginnt und an der Ventralfläche des Os entoglossum ansetzt.

Zu den äußeren Zungenmuskeln gehören: Der Musculus keratoglossus, der am oralen Abschnitt des Zungenbeinhornes entspringt und am Seitenrand des Os entoglossum inseriert, der Musculus keratohyoideus, der an der Innenseite des Zungenbeinhornes seinen Ursprung hat und am Urohyale des Zungenbeines ansetzt und der Musculus tracheo-thyreohyoideus, der an der Cartilago thyreoidea entspringt, zum Os basihyoideum und zum Os entoglossum zieht.

Sowohl die Muskulatur des Zungenkörpers als auch die äußeren Zungenmuskeln werden vom Nervus hypoglossus innerviert.

1.2.1. Bisherige Ergebnisse der deskriptiven Untersuchungen

Die Entwicklung der Zungenmuskulatur war schon um die Jahrhundertwende Gegenstand zahlreicher deskriptiver Untersuchungen.

So ging PLATT (1897) bei Amphibien davon aus, daß ventrale Auswüchse des dritten und vierten Occipitalmyotoms an der Entwicklung der Zungenmuskulatur teilnähmen.

MOLLIER (1895) und CORNING (1895) vertraten nach der Untersuchung von Reptilienembryonen, und NEAL (1897) und GOODRICH (1918) nach der von Elasmobranchierembryonen übereinstimmend die Auffassung, daß die Entwicklung der hypoglossären Muskulatur durch das Auswachsen ventraler Myotomknospen der ersten fünf Somiten beginne.

VAN BEMMELEN (1889) versuchte bei Reptilien die Herkunft der Zungenmuskulatur über das Auswachsen des Nervus hypoglossus zu bestimmen, indem er auf die räumliche Nähe und die Gemeinsamkeit der Entwicklungsbewegungen von Nerv und ventralen Ausläufern der vorderen fünf Myotome hinwies: "Ebenso wie die ventralen Ausläufer der vorderen fünf Myotome sich zu einem Strang zusammenfügen, machen es die zu ihnen gehörigen ventralen Nervenwurzeln. Der daraus hervorgehende Nerv ist der Hypoglossus; er begleitet den Muskelstrang an seiner vorderen Seite in seinem Verlauf um die Kiemtaschengegend bis zur Zungenbasis". *

Da die Zungenmuskeln aller Wirbeltierklassen vom Nervus hypoglossus, der als segmentaler Nerv ventraler Nervenwurzeln des Occipitalgebietes bezeichnet werden kann,

*
VAN BEMMELEN, J.F.: Über die Herkunft der Extremitäten- und Zungenmuskulatur bei Eidechsen.
Anat. Anz. 4, Seite 243 (1889)

innerviert werden, nahm diese Tatsache auch bei den Untersuchungen von FRORIEP (1882, 1885) an Säugetieren eine zentrale Stellung ein. In seiner Arbeit über die Herkunft der Zungenmuskulatur gelangte er zu der Überzeugung, daß nur der somitische Ursprung der Zungenmuskulatur eine befriedigende Erklärung für den außerordentlich gewundenen Verlauf des Nervus hypoglossus liefere. Er wies als erster darauf hin, daß bei Säugetieren die Zungenmuskulatur von hinten her, an der ventralen Seite der Schlundtaschen entlang in den Unterkieferbereich hineinwachse, und nannte den aus den kranialen Somiten hervorgegangenen Zellstrang "Schulterzungenleiste".

Seit der Zeit Froriep's haben HUNTER, R.M. (1935); HUNTER, R.P. (1935); EDGEWORTH (1935) und BATES (1948) weitere Befunde, insbesondere zu den frühen Phasen der Entwicklung der Zungenmuskulatur, publiziert. Sie bemühten sich, genaueren Aufschluß über den Entstehungsort und über den Beginn der Muskelentwicklung der Zunge zu erhalten.

HUNTER, R.P. (1935) verknüpfte den Anfang der Zungenmuskulaturentwicklung beim Huhn mit der Entstehung ventraler Myotomauswüchse der Somiten drei und vier, die er im 20-Somitenstadium beobachtete. Er beschrieb eine strangartige Verdichtung ventral der occipitalen Somiten, die er in Anlehnung an Froriep als "Zungenleiste" bezeichnete, in die sogenanntes hypoglossäres Myotommaterial der Somiten eins bis sieben abgegeben würde.

EDGEWORTH (1935) beschrieb bei Reptilien die Entwicklung der Zungenmuskulatur aus ventralen Teilen der ersten vier Myotome.

BATES (1948) vertrat die Meinung, daß das Material, welches bei der Katze die Zungenmuskulatur liefert, den ersten sechs Somiten, vier occipitalen und den folgenden zwei cervicalen, entstamme. Auch er beschrieb eine Verdichtung mesodermalen Materials, die sich bei fünf Millimeter langen Embryonen von der Höhe des vierten und fünften Somiten bis zum dorsolateralen Dach der Pericardhöhle erstrecken solle. Er wies darauf hin, daß dieses Anlagematerial auch in sehr jungen Embryonen zu einer somitischen Quelle zurückverfolgt werden könne, so daß seiner Meinung nach der Beweis erbracht sei, daß die Entwicklung der Zungenmuskulatur bei den Säugern nicht einzigartig, sondern derjenigen bei niederen Wirbeltierklassen durchaus vergleichbar sei.

Eine weitere Beschreibung der Entwicklung der Zungenmuskulatur hat KALLIUS (1905) gegeben, der sich mit älteren Embryonalstadien befaßte. Er zeigte anhand von Glasrekonstruktionen die Entwicklung der schon in situ befindlichen Muskelanlagen bei Vögeln. Einen somitischen Ursprung indes konnte er nur vermuten.

Die bisher angeführten deskriptiven Untersuchungen, die, entsprechend den Ergebnissen bei Embryonen niederer Wirbeltiere, insgesamt Hinweise für eine somitische Quelle der Zungenmuskulatur bei Säugetierembryonen erbracht haben, stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen von LEWIS (1910). Er gelangte aufgrund deskriptiver Studien an menschlichen Embryonen zu der Auffassung, daß sich die Zungenmuskulatur am Ort aus dem Mesenchym des Mundbodens differenziere und berichtete, daß die bilateralen Anlagen der Zungenmuskeln in Form von Mesodermkondensationen erst zu erkennen seien, nachdem die Embryonen eine Länge von

neun Millimetern erreicht hätten, und schloß demnach einen somitischen Ursprung der Zungenmuskulatur aus.

Demgegenüber meinte KINGSBURY (1915), es sei sehr wahrscheinlich, daß sich die hypoglossäre Muskulatur der Vögel durch Myoblasten entwickle, die den Myotomen der ersten drei oder vier Somiten entstammen.

PONS-TORTELLA (1936) unterstützte die Konzeption von LEWIS (1910), daß beim menschlichen Embryo der Musculus transversus linguae als Binnenmuskel der Zunge in situ durch Umwandlung embryonaler Bindegewebszellen in Muskelzellen gebildet würde. Dieses vollziehe sich unabhängig von der Entwicklung der Außenmuskulatur der Zunge, die, durch embryonales Bindegewebe von der Binnenmuskulatur getrennt, als eigenständige Anlage anzusehen sei.

1.2.2. Bisherige Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen

Angesichts der widersprüchlichen Auffassung bei der Deutung der Entwicklung der Zungenmuskulatur schlossen sich an die zunächst rein deskriptiven Untersuchungen Mitte dieses Jahrhunderts erste experimentelle Studien an, die auf neu entwickelten experimentell embryologischen Exstirpations-, Transplantations- und Markierungstechniken beruhten.

So beobachtete DETWILER (1929) an Amphibien ein Fehlen der hypoglossalen Muskulatur, nachdem er occipitale Somiten exstirpiert hatte.

DEUCHAR (1958) versuchte ebenfalls eine experimentelle Klärung dieser Problematik, indem sie occipitale Somiten von Hühnerembryonen, der Stadien 10 - 12 nach HAMBURGER und HAMILTON (1951), mit Kohlepartikeln markierte und deren Weiterentwicklung untersuchte. Es stellte sich heraus, daß die eingebrachten Kohlepartikel nach der Reinkubation bei Embryonen der Stadien 20 - 28 H.H. im Bereich des Mandibularbogens, im Mesoderm des Pharynx und in den Zungenmuskeln nachweisbar waren. Aufgrund dieser Versuche zog DEUCHAR (1958) die Schlußfolgerung, daß bei Hühnerembryonen Zellen von den occipitalen Somiten eine Wanderung zum Unterkiefer hin durchmachen, um dort an der Bildung der Zungenmuskulatur teilzunehmen.

Die Einführung erster zellspezifischer Markierungsmethoden, WESTON (1962, 1963); CHIBON (1964, 1967), veranlaßte HAZELTON (1970) die Entwicklung der hypoglossalen Muskulatur beim Hühnerembryo neu zu untersuchen, indem er occipitale Somiten 3H-Tyhmidin markierter Spen-

derembryonen orthotop auf Wirtsembryonen transplantierte und deren Weiterentwicklung beschrieb. Er gelangte zu der Auffassung, daß die hypoglossale Muskulatur den occipitalen Somiten entstamme und schloß aus seinen Untersuchungen, daß eine aktive Proliferation und ausgedehnte ventro-laterale Wanderung von Myotomzellen in Form von sogenannten "hypoglossal cords" an der dorso-lateralen Oberfläche der Pericardhöhle vorbei in Richtung auf den Mandibularbogen stattfinde.

1.3. Fragestellung

Während über die Anordnung und Gestalt der Zungenmuskeln bei adulten Amnioten gesicherte Angaben vorliegen, bestehen dagegen über deren Ursprung und Entwicklung kontroverse Auffassungen. So wird einerseits eine in situ-Entwicklung der Zungenmuskulatur beschrieben, andererseits soll sie somitischen Ursprungs sein und erst sekundär in die schon vorgebildete Zunge einwachsen, was durch den Spinalnervencharakter des sie innervierenden Nervus hypoglossus gestützt wird.

Ein gesicherter experimenteller Nachweis des Ursprungs der Zungenmuskulatur steht hingegen noch aus, da keine zuverlässige Methode einer Langzeitmarkierung von Zellen zur Verfügung stand.

So erklärte beispielsweise THEILER (1957) mögliche Fehlinterpretationen nach Kohlemarkierungen damit, daß der "Kohlestaub" am Implantationsort liegen bleiben könne und deshalb die Bewegungen von Zellen nicht immer zweifelsfrei angezeigt würden. DEUCHAR (1958) fand bei ihren Experimenten Kohlepartikel, die während der Operation in das vitelline Gefäßsystem gelangt waren und dadurch die Beurteilung der Befunde erschwerten. Ebenfalls bestand die Gefahr, daß die Kohle durch Neuralleistenzellen weitertransportiert wird. Schließlich wies JOHNSTON (1966) in einer Erörterung über die Verläßlichkeit der von ihm angewendeten autoradiographischen Methode darauf hin, daß das H^3-Thymidin, wegen der mit der Proliferation eintretenden Verdünnung, in ausdifferenzierten Geweben nicht mehr nachweisbar sei. Andererseits konnte eine Dosissteigerung wegen der zu erwartenden Strahlenschäden nicht erwogen werden.

Durch die von LE DOUARIN und BARQ (1969) angegebene Technik der biologischen Zellmarkierung steht eine Methode zur Verfügung, die es ermöglicht, Zellwanderungen über lange Zeiträume zu verfolgen. Die Methode besteht darin, daß embryonale Anlagen der Japanischen Wachtel (Coturnix coturnix japonica) auf Hühnerembryonen überpflanzt werden. Aus derartigen Transplantaten hervorgegangene Zellen sind nach beliebig langer postoperativer Reinkubation im Wirtsembryo daran zu erkennen, daß die Interphasekerne der Wachtelzellen durch eine besonders auffällige Kondensation des Nucleolus-assoziierten Heterochromatins gekennzeichnet sind. (Abbildung 1).

Zur Klärung des Ursprungs der Zungenmuskulatur wurden mittels dieser Technik Transplantationsexperimente durchgeführt.

Während bei der Extremitätenentwicklung auch der höheren Wirbeltiere ein Zusammenhang zwischen Somitendifferenzierung und Myogenese von CHRIST et al. (1974 b, 1977 a, 1977 b) und CHEVALLIER et al. (1976, 1977 a, 1978) eindeutig nachgewiesen wurde, hatte sich bisher eine derartige Beziehung bei der Entwicklung der Zungenmuskulatur nicht beweisen lassen.

Sowohl vor der Muskelentwicklung der oberen als auch der unteren Extremität gliedern sich "myogenic stem cells" aus der ventro-lateralen Dermatomkante ab und migrieren in die Somatopleura des Anlagegebietes der jeweiligen Gliedmaßen. (JACOB et al. 1978, 1979). Diese Zellen differenzieren in der Intermediärzone des Gliedmaßenmesenchyms zu Myoblasten und bilden zusammen mit den aus der Somatopleura stammenden Fibroblasten Muskelblasteme, aus denen die definitiven Muskeln hervorgehen.

Die Bauchmuskulatur bei Hühnerembryonen entwickelt sich ebenfalls aus den Somiten, nur stammen die Zellen, die das Anlagematerial für die Muskulatur darstellen aus den ventralen "Dermatomyotomkanten" thorakaler Somiten, also sowohl aus Dermatomzellen, als auch aus Myotomzellen. CHRIST et al. (1980).

Im Hinblick auf die Entwicklung der Zungenmuskulatur soll zunächst folgende Frage am Beispiel des Hühnerembryos experimentell geprüft werden:

1.) Ist die Muskulatur der Zunge somatischen Ursprungs, entstammt sie also den bilateral des Neuralrohrs befindlichen occipitalen Somiten des Embryos oder differenziert sie sich aus dem Mesenchym des Mundbodens?

Sollten die Ergebnisse der Experimente zeigen, daß Zellen aus den occipitalen Somiten tatsächlich das Anlagematerial für die Zungenmuskulatur darstellen, ergäben sich weitere Fragen:

2.) Welche Somitenderivate bilden die Matrix für die Zungenmuskulatur?

3.) Haben die occipitalen Somiten in Bezug auf die Ausprägung der spezifischen Muskelformen der Zungenmuskeln einen determinierenden Einfluß oder erfolgt die Steuerung der regionalspezifischen Muskelentwicklung durch andere Faktoren?

zu 1.)

Die experimentelle Analyse des Ursprungs der Zungenmuskulatur basiert auf einer mikrochirurgischen Operation mit Hühner- und Wachtelembryonen. LE DOUARIN und BARQ (1969). Es wurden entsprechend der schematischen Darstellung der Abbildung 2 bei Hühnerembryonen der Stadien 10 - 11 H.H. in ovo occipitale Somiten mit darüberliegendem Ektoderm einer Körperseite exstirpiert und durch entsprechende Somiten von gleichaltrigen Wachtelembryonen ersetzt.

zu 2.)

Die Klärung der Frage welches Somitenderivat, Dermatom, Myotom oder Sklerotom das Material der Zungenmuskulatur liefert, wird sowohl mit Hilfe der oben angegebenen Operation als auch anhand von Semidünnschnitten normaler Embryonen der Stadien 13 - 17 H.H. vorgenommen.

zu 3.)

Zum Problem, inwieweit die occipitalen Somiten einen determinierenden Einfluß auf die regionalspezifische Muskelindividuation ausüben, wurden brachiale Somiten heterotop transplantiert.

2. Material und Methode

2.1. Material

2.1.1. Embryonen

Für die Transplantationsexperimente und die deskriptiven Studien an Normalstadien wurden Hühnerembryonen des reinerbigen Stammes "Weiße Leghorn" von der Geflügelfarm G. Pelsch, Witten, verwendet. Als Spender bei den Verpflanzungsexperimenten dienten Embryonen der "Japanischen Wachtel" (Coturnix coturnix japonica) von der Firma J. Bökamp, Schloß Holte. Die Inkubation der Eier erfolgte in einem Kleinmotorbrüter der Firma Ehret bei 38 $^{o}C \pm 0,5$ und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % - 85 %.

2.1.2. Werkzeuge und Geräte

Alle Operationen wurden in einer keimarmen, durch Verglasung vom übrigen Labor getrennten Operationskabine unter einem Stereomikroskop der Firma Leitz, Wetzlar, durchgeführt. Das Operationsbesteck bestand aus in feine Glasröhrchen eingeschmolzene, elektrolytisch angespitzte Wolframdrähte DOSSEL (1958), sonderangefertigten, feinen Mikroscheren, selbst zugeschliffenen Stahlnadeln, feinsten DUMONT-Pinzetten und 0,5 mm starken Feinsägen der Firma Eberle, Stuttgart. Weiterhin wurden aus Glas Nadeln, kleine Bällchen und SPEMANN-Pipetten selbst hergestellt. Für die Anfärbung des Transplantates und des Wirtsembryos wurden feinste Glas- und Wolframnadeln hergestellt, die mit Nilblausulfat-Agar überzogen wurden. Das Verschließen der

Eier nach der Operation wurde mit wasserfestem Leukoplast der Firma Beiersdorf, Hamburg, vorgenommen. Die Glasgefäße und Pipetten sowie das Operationsbesteck wurden vor der Operation sterilisiert, die Gefäße zusätzlich mit Aluminiumfolie abgedeckt, die Pipetten in 70 % Alkohol gelagert. Vor und nach der Operation wurden die glasbedeckten Operationstische und Geräte mit Buraton desinfiziert, zwischen den Operationen mit einer Sterosol-UV-Leuchte bestrahlt.

2.1.3. Chemikalien

Nachfolgende Chemikalien wurden entweder aus dem lokalen Fachhandel, direkt von den Firmen oder vom universitätseigenen Chemikalienlager bezogen:

Isotonische Elektrolytlösung (Locke-Lösung), Nilblausulfat, Lichtgrün, Serra-Fixierlösung (Formalin, Eisessig, absoluter Alkohol), Karnovsky-Fixierlösung (Cacodylatpuffer, 0,2 n HCl, 8,2 % Glutaraldehydlösung), Agar-Agar, Kaliumnitrit, Buraton Desinfektionsmittel, Propanol, Benzoesäuremethylester, Benzol, Paraplast, Paraffin, Eiweißglycerin, Xylol, Äthanol, 5 n HCl, Schiff'sches Reagenz, Eukitt, Hank's-Lösung (Na Cl, K Cl, Ca Cl_2, Mg SO_4, Na HPO_4, KH_2, PO_4, Na HCO_3), Durcupan, Aceton, Propylenoxid, Methylenblau, Azur II, Natriumtetraborat, Glycerin.

2.1.4. Photomaterial

Für die Mikrophotographie wurden folgende Filme benutzt:

Kleinbildfilm Agfaortho 25 professional 9 DIN, Kleinbildfilm Ilford Pan F 20 DIN. Zur Filmentwicklung wurde Rodinal, zu dessen Fixierung Superfix Fixierlösung genommen. An Photopapier wurden Brovira-Speed und Ilfospeed in unterschiedlicher Gradation verwendet. Für die Positivherstellung wurden Eukobrom und Fixiersalz eingesetzt. Die entwickelten Filme wurden abschließend mit Mirasol-Antistatik der Firma Tetenal behandelt.

2.2. Methode

2.2.1. Biologische Zellmarkierungstechnik

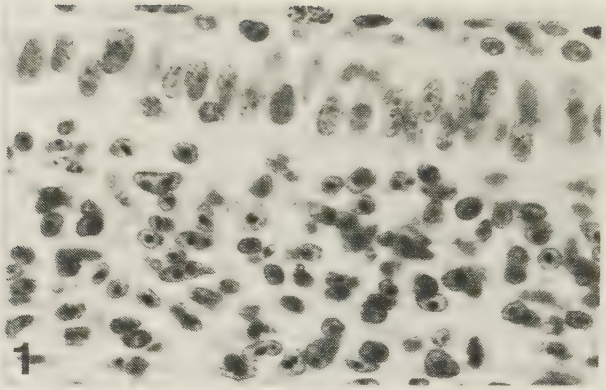
Um der in Punkt 1.3. aufgezeigten Problematik bei der Beurteilung von Zellbewegungen während der Ontogenese Rechnung zu tragen, ist es notwendig, eine Zellmarkierung zu verwenden, die später eine eindeutige Identifikation der markierten Zellen in jedem Entwicklungsstadium möglich macht. Dieses ist durch die Arbeit von LE DOUARIN und BARQ (1969) realisiert worden, in der eine biologische Langzeitmarkierung von Zellen für experimentell embryologische Untersuchungen vorgeschlagen wird.

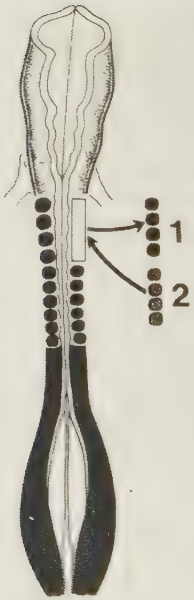
Die Markierungstechnik basiert auf strukturellen Unterschieden im Chromatin der Interphasekerne zweier Vogelspezies, der Japanischen Wachtel (Coturnix coturnix japonica) und des Haushuhnes (Gallus gallus domesticus). (Abbildung 1). Während unter Verwendung der für die DNA spezifischen Färbemethode nach FEULGEN und ROSSENBECK (1924) auf lichtmikroskopischer Ebene die Struktur der Zellkerne des Haushuhnes durch eine relativ gleichverteilte Körnung gekennzeichnet werden kann, d. h. gleichmäßige Verteilung der DNA im Nucleoplasma, ist bei allen Geweben der Japanischen Wachtel eine beachtliche Chromatinmenge im Interphasekern zu einer großen "Zentralmasse" zusammengefaßt. Elektronenmikroskopisch handelt es sich hierbei um große Mengen der an die nucleoläre RNA gebundenen, heterochromatischen DNA.

Das experimentelle Vorgehen bei dieser Technik besteht darin, in ovo Keimabschnitte der Japanischen Wachtel auf Hühnerembryonen zu transplantieren und deren Wei-

terentwicklung im Wirtsorganismus zu verfolgen. Aufgrund der oben beschriebenen unterschiedlichen Anordnung des Chromatins in Hühner- und Wachtelzellkernen ist es möglich, die aus derartigen Transplantaten hervorgegangenen Zellen auch nach beliebig langer postoperativer Reinkubation zu identifizieren.

Experimente von LE DOUARIN und TEILLET (1970, 1971 a,b), LE LIÈVRE (1971) haben gezeigt, daß die aus dem Spenderembryo isolierten Keimabschnitte rasch in den Wirtsembryo integriert werden und sich der Histogenese unterwerfen. Hierbei wurden keine Entwicklungsabnormitäten beobachtet, solange die Verpflanzung exakt ausgeführt wurde; d. h. das Transplantat muß dem Defekt im Wirtsembryo genau entsprechen und die Ausführung der Operation muß unter möglichst keimarmen Bedingungen vorgenommen werden.





2

Abbildung 1

Chimärische Hautanlage. Das Ektoderm stammt vom Hühnchen, der mesenchymale Anteil von der Wachtel. Die Zellkerne der Wachtelzellen sind durch eine besonders auffällige Kondensation ihres Heterochromatins gekennzeichnet. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 1700 : 1

Abbildung 2

Operationsschema: Unilaterale Exstirpation der occipitalen Somiten (1) eines Hühnerembryos im Stadium 10 nach H.H. und Implantation entsprechender Somiten von einem gleichaltrigen Wachtelembryo. (2).

2.2.2. Operationstechnik

Es wurden Transplantationsexperimente durchgeführt. Entsprechend der schematischen Darstellung in Abbildung 2 wurden bei Hühnerembryonen der Stadien 10 - 11 nach H.H. in ovo occipitale Somiten einer Körperseite exstirpiert und durch entsprechende Somiten gleichaltriger Wachtelembryonen ersetzt.

Zur Gewinnung des Transplantates wurde der Wachtelembryo zunächst dem Ei entnommen und kultiviert, wozu er, bedeckt von isotoner Elektrolytlösung (Locke-Lösung), auf einem Agar/Agar-Boden befestigt wurde. Nun wurden die ersten vier Somiten mit darüberliegendem Ektoderm dorsal aus iher medialen, ventralen und lateralen Verankerung gelöst, so daß das Transplantat aus vier aneinanderhängenden Somiten und dem dorsal mit ihnen verwachsenen Ektoderm bestand. Zur Kennzeichnung der natürlichen kranio-kaudalen Ausrichtung des Transplantates wurde kurz vor Beendigung der Somitenisolierung das Ektoderm über dem ersten Somiten mit Nilblausulfat markiert. Das Transplantat wurde dann bis zu seiner weiteren Verwendung in der Kultur belassen.

Der nächste Schritt bestand darin, die dem Transplantat homologen Keimabschnitteim Wirtsembryo zu exstirpieren und das Transplantat in den so entstandenen Defekt einzusetzen. Diese Operation wurde in ovo unter einem Stereomikroskop bei etwa 80-facher Vergrößerung nach der Methode von HARA (1971) durchgeführt, bei der durch seitliche Beleuchtung des in das Kalkschalenniveau gebrachten Embryos der Kontrast der einzelnen Körperstrukturen wesentlich verbessert werden konnte.

Die Herstellung des Defektes im Wirtsembryo wurde analog zur Transplantatgewinnung durchgeführt; von besonderer Bedeutung war es, durch exakte Schnittführung eine Zerstörung benachbarter Körperbestandteile zu vermeiden. So kam es entscheidend darauf an, die den occipitalen Somiten eng benachbarte dorsale Aorta nicht zu verletzen.

Mit Hilfe einer SPEMANN-Pipette, einer für besonders kleine Flüssigkeitsbewegungen konstruierte Pipette, wurde dann das Transplantat aus der Kultur entnommen und vorsichtig im Operationsbereich abgelegt. Mittels feiner Glasbällchen wurde es in natürlicher Orientierung in den Defekt plaziert.

Anschließend wurde der Embryo unter Sichtkontrolle abgesenkt, das Fenster in der Eischale mit wasserfestem Leukoplast verschlossen und das Ei zur Weiterbebrütung wieder in den Inkubator gegeben. Es stellte sich als zweckmäßig heraus, die relative Luftfeuchtigkeit während der ersten 4 - 6 Stunden nach der Operation von üblichen 60 - 70 % auf 80 - 85 % zu erhöhen, um Verklebungen des Amnions mit dem Ektoderm des Embryos im Operationsbereich zu vermeiden. Die Temperatur blieb konstant bei 38 ^{o}C $\pm$ 0,5. Die Reinkubationsdauer betrug bis zu 13 Tagen.

2.2.3. Klassische Lichtmikroskopie

Fixierung der operierten Embryonen:

Nach der postoperativen Reinkubation wurden die Wirtsembryonen dem Ei entnommen, kurz in physiologischer Kochsalzlösung gespült, und der Kopf und der Hals in Serra-Lösung, einem Gemisch aus 60 Teilen absolutem Alkohol, 30 Teilen Formol und 10 Teilen Eisessig, 24 Stunden lang bei 5 ^{o}C fixiert.

Einbettung in Paraplast:

Die fixierten Embryonenköpfe wurden zwei Tage unter mehrmaligem Wechseln in 95 % Propanol und zweimal eine Stunde in absolutem Propanol entwässert; zur Beseitigung des Alkohols und des restlichen Wassers in Benzoesäuremethylester übertragen. Dieser wurde, nachdem die Präparate abgesunken waren, nach vier Stunden, sechzehn Stunden und zweiundsiebzig Stunden gewechselt. Hiernach wurden die Präparate drei mal zwei Minuten lang in reinem Benzol auf die Durchtränkung mit Paraplast vorbereitet, die vorher drei Minuten lang in auf 50 °C erhitztem Benzolparaplast eingeleitet wurde. Anschließend wurden die Präparate etwa vier Tage unter wiederholtem Wechsel mit Paraplast durchtränkt.

Die Einbettung erfolgte unter Verwendung von Doppelwinkel-Einbettungsrahmen, die auf eine saubere Glasplatte aufgelegt wurden und mit Hilfe gegenseitigen Verschiebens der Größe des einzubettenden Präparates angepaßt werden konnten. Mit kleinen Nadeln wurden die Präparate unter der Lupe innerhalb des noch flüssigen Einbettungsmittels gerichtet eingebettet.

Herstellung der Paraplastschnitte:

Die mit flüssigem Paraplast auf Holzblöckchen aufgeschmolzenen Paraplastblöcke wurden von überflüssigem Paraplast befreit, dünn mit Weichparaffin überzogen und mittels einem Minotmikrotom der Firma Leitz, Wetzlar, in lückenlose Schnittserien (Schnittdicke 7µ) zerlegt.

Die Paraplastschnitte wurden auf beschriftete, mit Alkohol gereinigte und mit einer dünnen Eiweißglycerinschicht versehene Objektträger aufgelegt und etwa 30 Minuten auf einem Wärmetisch bei 35 °C gestreckt. Anschließend wurden die Schnitte in einem Wärmeschrank bei ebenfalls 35 °C getrocknet.

Färbung mit der Reaktion nach Feulgen und Rossenbeck:

Die auf Objektträger fixierten, 7µ dicken Paraplastschnitte wurden zunächst entparaffiniert, indem sie viermal je fünf Minuten in Xylol und einmal zweieinhalb Minuten in Xylol-Alkohol getaucht wurden. Anschließend wurden sie in einer absteigenden Alkoholreihe rehydratisiert und in Aqua dest. übertragen. Zur Nuclealfärbung wurden die Schnitte einer milden, sauren Hydrolyse unterworfen, indem sie kurz in 5 n HCl abgespült wurden und 30 Minuten in 25 °C warme 5 n HCl überführt wurden. Die Färbung erfolgte durch einstündiges Einlegen in 25 °C warmes Schiff'sches Reagenz. Danach wurden die Schnitte in fließendem Wasser fünfzehn Minuten ausgewaschen.

Zur Cytoplasmafärbung wurden die Schnitte während der anschließenden Entwässerung, bevor sie in absoluten Alkohol gegeben wurden, fünf bis dreißig Sekunden in Lichtgrün überführt. Abschließend wurden sie für 2,5 Minuten in Xylol-Alkohol, viermal fünf Minuten in Xylol gebracht und schließlich mit Eukitt eingedeckt.

Mikrophotographie:

Die Paraplast- und Semidünnschnitte wurden unter Verwendung eines Photomikroskopes "Orthoplan" der Firma Leitz, Wetzlar, photographiert und die Aufnahmen zum Zwecke der späteren Zuordnung sofort protokolliert.

Der dabei am häufigsten benutzte Film Agfaortho professional 9 DIN, wurde mit einer 0,8 % Lösung Rodinal bei 20 °C zwölf Minuten entwickelt, kurz gewaschen und mit Superfix fixiert, anschließend zwanzig Minuten gewässert und vor dem Trocknen mit Mirasol-Antistatik behandelt.

Das Photopapier wurde mit einem Vergrößerungsgerät Focomat II c der Firma Leitz, Wetzlar, belichtet, mit Eukobrom für ein bis zwei Minuten entwickelt, gespült, weiterhin zwei bis drei Minuten fixiert und fünfzehn Minuten gewässert. Abschließend wurden die Photos in einem Trockenschrank der Firma Meteor, Siegen, getrocknet.

2.2.4. Semidünnschnitt-Technik

Fixierung normaler Embryonen:

Entsprechend der Stadieneinteilung nach HAMBURGER und HAMILTON (1951) wurden normale Embryonen der Stadien neun bis zwanzig in ovo durch Unterspritzen und Beträufeln mit einer 6,04 % Karnovsky-Lösung anfixiert, sofort dem Ei entnommen und in eine Petrischale mit frischer Fixierlösung gebracht, in der unter dem Mikroskop der Körperabschnitt der Embryonen zwischen fünftem Somit und Ohrplakode herauspräpariert wurde. Anschließend wurden die Gewebeteile bei 5 °C achtundvierzig bis zweiundsiebzig Stunden lang nachfixiert.

Einbettung in Durcupan:

Die fixierten embryonalen Körperabschnitte wurden durch mehrfaches Spülen in Hank's-Lösung vom Fixiermittel befreit und anschließend über die aufsteigende Acetonreihe (30 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 100 %) und mit Propylenoxid entwässert. Danach wurden die Präparate nacheinander in drei Aceton/Durcupan-Mischstufen überführt, in denen jeweils der Anteil des Acetons um den Teil abnahm, um den der Anteil des Durcupans vergrößert wurde. Nachdem die Präparate dann etwa 48 Stunden in

reinem Durcupan gelegen hatten, wurden sie mit Hilfe weicher Kunststoff-Formen in Durcupan eingebettet. Mittels einer angewärmten Nadel wurde die Position der Präparate im Einbettungsmittel entsprechend der Schnittrichtung korrigiert und schließlich das Durcupan über 48 - 72 Stunden bei 70 °C polymerisiert.

Herstellung und Färbung von Semidünnschnitten:

Mit einer Laubsäge wurde ein rechteckiges Stück aus dem polymerisierten Durcupanblöckchen so herausgesägt, daß sich das Präparat an einer der kurzen Seiten des Rechteckes befand. Anschließend wurde der Durcupanquader in einem Präparatehalter eines OmD-Mikrotoms der Firma Reichert, Wien, eingespannt und unter einer Zeiss-Stereolupe der Präparatebereich mit einer Rasierklinge pyramidenförmig aus dem Niveau des Quaders herausgearbeitet.

Es wurden 1µ dicke Schnitte hergestellt, die auf mit Aqua bidest beträufelte Objektträger übertragen und auf einem Heiztisch bei 150 °C getrocknet wurden.

Zur Färbung der Schnitte wurden die Objektträger mit Azur II-Methylenblau, einem Gemisch aus gleichen Teilen in Lösung gebrachter Azur II-, Methylenblau- und Natriumtetraboratkomponenten, überschichtet und bei 150 °C für fünf bis zehn Sekunden auf der Heizplatte belassen.

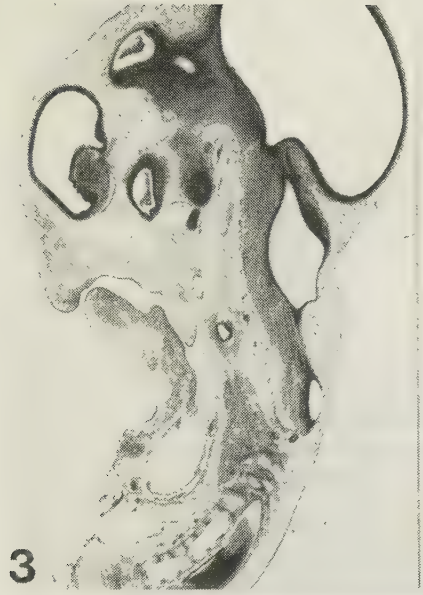
Nach der Färbung wurden die Objektträger unter fließendem Wasser abgespült und kurz in 80 % Alkohol differenziert, weiterhin mit Luft kurz abgeblasen und wiederum auf einer Wärmeplatte bei 150 °C getrocknet. Abschließend wurden die Schnitte mit Eukitt eingedeckt.

3. Ergebnisse

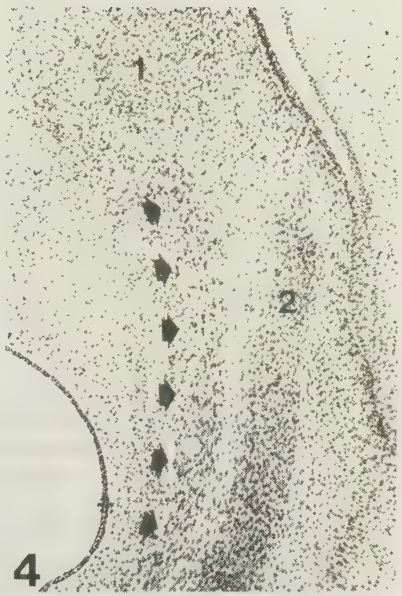
3.1. Zur Herkunft der Zungenmuskulatur

Nach orthotoper Transplantation occipitaler Somiten und anschließender postoperativer Reinkubation der Wirtsembryonen ergibt sich für die aus dem Transplantat hervorgegangenen Zellen folgende Verteilung.

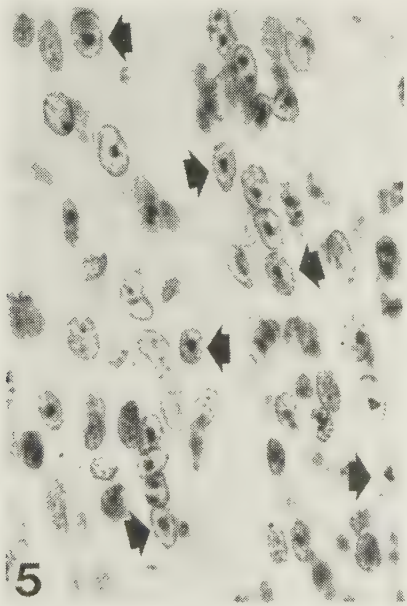
Nach 5-tägiger postoperativer Wiederbebrütung befindet sich der Wirtsembryo im Stadium 28 H.H. (Abbildung 3). Sowohl die binde- und stützgewebigen, als auch die muskulären und nervalen Strukturen des Embryos haben sich entsprechend der Normogenese entwickelt. Im Unterkiefer- Halsbereich, ventral des Oesophagus, liegt das in diesem Stadium noch knorpelige Anlagematerial des Zungenbeines. Kaudal dieses Knorpelstückes und ventral der Trachea, in einer zu ihr parallelen Ausrichtung befindet sich eine strangförmige Ansammlung von Muskelblastemzellen, die durch Kerne vom Wachteltyp gekennzeichnet sind (Abbildungen 4 und 5). Kranial der knorpeligen Anlage des Zungenbeines, im Bereich des prospektiven Zungengrundes, hat sich ebenfalls ein Muskelblastem gebildet, das Zellen vom Wachteltyp aufweist.



3



4



5

Abbildung 3

Sagittalschnitt des Kopf- und Halsbereiches eines Hühnerembryos nach 5-tägiger postoperativer Reinkubation (Stadium 28 H.H.). Feulgenreaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 17 : 1

Abbildung 4

Ausschnitt aus dem Unterkiefer- und Halsbereich eines nach 5-tägiger postoperativer Reinkubation fixierten Embryos. 1: Knorpelanlage vom Zungenbein; 2: Trachea; Pfeile: Muskelblastem. Feulgenreaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 150 : 1

Abbildung 5

Ausschnittvergrößerung aus dem mit Pfeilen bezeichneten Muskelblastem der Abbildung 4. Pfeile: Zellkerne vom Wachteltyp. Ca. 1500 : 1

Nach 12-tägiger postoperativer Reinkubation befindet sich der Wirtsembryo im Stadium 41 H.H. (Abbildung 6). Die topographischen Verhältnisse im Bereich der Zunge und des Zungengrundes entsprechen den Gegebenheiten bei normalen Embryonen. Die einzelnen Zungenmuskeln haben sich abgegliedert und weiter differenziert, und die Bestandteile des Zungenbeines sind entsprechend der Normogenese entwickelt.

Das Zungenbein besteht aus mehreren gelenkig verbundenen, teils knöchernen, teils knorpeligen Skelettstücken, die vom Schildknorpel bis in die Zungenspitze reichen (Abbildung 6):

Das Os basihyoideum als unpaares Skelettstück, das oral und aboral durch je ein weiteres Skelettstück verlängert wird. Einmal durch die Carina mit ihrem knorpeligen Endstück am Schildknorpel und zum anderen durch das Os entoglossum innerhalb des Zungenkörpers ebenfalls mit einem knorpeligen Endteil, das bis in die Zungenspitze reicht. Hinzu kommen die paarig angeordneten Zungenbeinäste, die sich dem Neurocranium seitlich anlegen (Abbildung 6).

Am Zungenbein inserieren jeweils paarig folgende Zungenmuskeln:

Der Musculus tracheo-thyreohyoideus, der Musculus hypoglossus obliquus, der Musculus hypoglossus rectus, der Musculus keratoglossus und der Musculus keratohyoideus.

Sagittalschnitt durch den Kopf eines Hühnerembryos nach 12-tägiger postoperativer Reinkubation (Stadium 40 H.H.). Die topographischen Verhältnisse des Unterkiefer- Zungenbereiches zeigen, daß sich sowohl die einzelnen Zungenmuskeln, als auch das Zungenbein entsprechend der Normogenese entwickelt haben. 1: Zungenbein; Pfeile: Zungenmuskeln. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 160 : 1

3.1.1. Musculus hypoglossus obliquus

Der Musculus hypoglossus obliquus entspringt an der Ventralfläche des Os basihyoideum und setzt lateral am Os entoglossum an (Abbildung 7). Das Muskelblastem weist die dem Differenzierungsgrad eines 14 Tage alten normalen Hühnerembryos entsprechenden Myotubenformationen auf. Das lockere Bindegewebe des Muskelblastems, sowie Faszien und Sehnen sind regelrecht entwickelt. Die Myotuben sind durch Kerne vom Wachteltyp gekennzeichnet (Abbildungen 8 und 9).

3.1.2. Musculus hypoglossus rectus

Der Musculus hypoglossus rectus hat seinen Ursprung ventral am Os basihyoideum und setzt ventral am distalen Anteil des Os entoglossum, das bis in die Zungenspitze hineinreicht, an (Abbildung 10). Sowohl das lockere Mesenchym der Zungenspitze, als auch ihre stütz- und bindegewebigen Bestandteile entsprechen der Histogenese normaler Embryonen. Die Myotuben des Muskelblastems weisen Kerne vom Wachteltyp auf (Abbildungen 11 und 12).

3.1.3. Musculus tracheo-thyreohyoideus

Der Musculus tracheo-thyreohyoideus entspringt an der Cartilago thyreoidea und inseriert am Os basihyoideum nahe des basihyoid-entoglossal Gelenkes (Abbildung 13).

Das in diesem Bereich und in diesem Stadium noch größtenteils knorpelige Zungenbein stimmt völlig mit den entsprechenden Strukturen der kontra-lateralen Seite überein. Die Myotuben sind durch Kerne vom Wachteltyp gekennzeichnet (Abbildungen 14 und 15).

3.1.4. Musculi keratoglossus und keratohyoideus

Beide Muskeln, sowohl der Musculus keratoglossus als auch der Musculus keratohyoideus, umgreifen im Bereich ihrer Ansätze den Zungenbeinast in seinem dorso-lateralen Anteil und weisen dann einen aboral ausgerichteten Verlauf auf. Der Musculus keratoglossus zieht zum lateralen Rand des Os entoglossum, der Musculus keratohyoideus inseriert an der Carina des Zungenbeines (Abbildung 16). Sowohl die im Stadium 41 - 42 H.H. am Anfang der Verknöcherung stehenden Zungenbeinäste, die einstrahlenden Muskelfasern, als auch die aus lockerem Bindegewebe bestehenden Zwischenschichten, sowie die Sehnen und Faszien entsprechen den Verhältnissen bei normalen Embryonen (Abbildung 17). Die Myotuben weisen Kerne vom Wachteltyp auf (Abbildung 18).

2
1
3
7

2
3
8

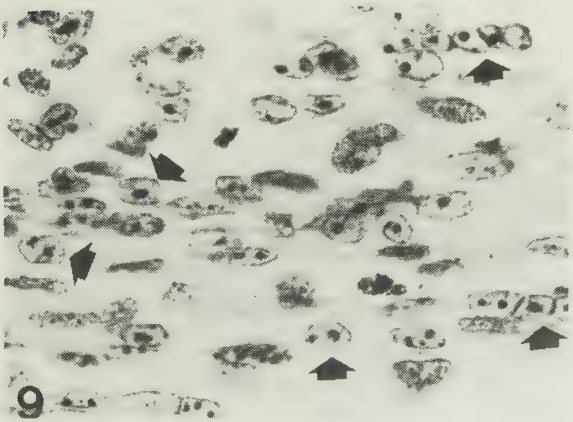

9

Abbildung 7

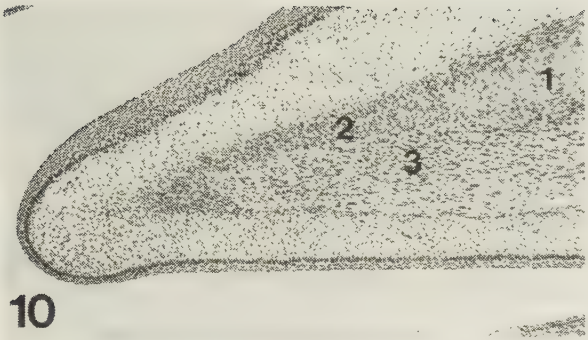
Medialer Abschnitt des Musculus hypoglossus obliquus im Bereich des basihyoid-entoglossal Gelenkes des Zungenbeines. 1: Os basihyoideum; 2: Os entoglossum; 3: Musculus hypoglossus obliquus. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 150 : 1

Abbildung 8

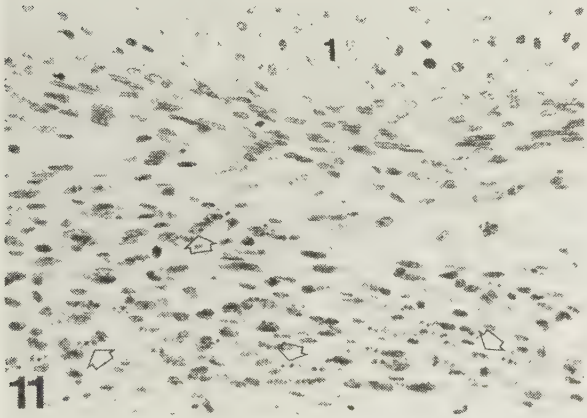
Ausschnittvergrößerung aus dem in Abbildung 7 abgebildeten Musculus hypoglossus obliquus. 1: Os basihyoideum; 2: Os entoglossum; 3: Musculus hypoglossus obliquus. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 370 : 1

Abbildung 9

Ausschnittvergrößerung aus einem lateralen Anteil des Musculus hypoglossus obliquus. Die Myotuben enthalten Zellkerne vom Wachteltyp. Pfeile: Zellkerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 1500 : 1



10



11

12

Abbildung 10

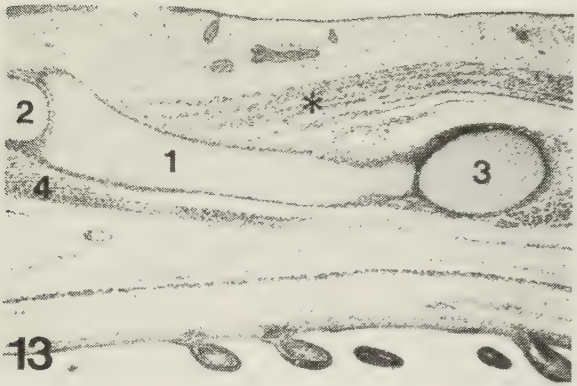
Ansatz des Musculus hypoglossus rectus am knorpeligen Endstück des Os entoglossum in der Zungenspitze. 1: Os entoglossum; 2: knorpeliges Endstück des Os entoglossum; 3: Musculus hypoglossus rectus. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 150 :1

Abbildung 11

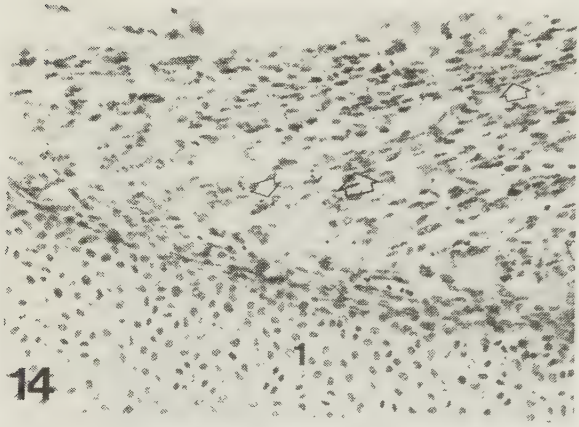
Medialer Anteil des Musculus hypoglossus rectus ventral des Os entoglossum. 1: Os entoglossum; Pfeile: Myotuben mit Kernen vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 650 : 1

Abbildung 12

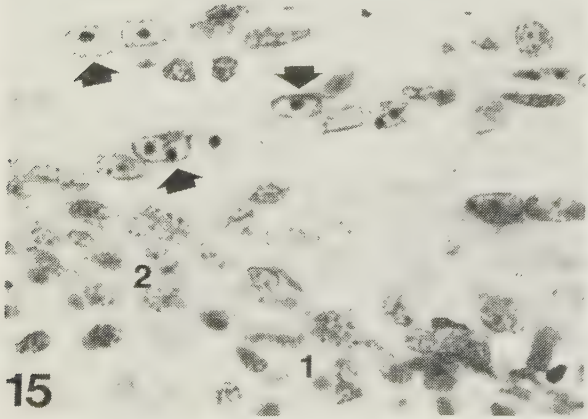
Ausschnittvergrößerung aus dem Musculus hypoglossus rectus in Abbildung 11. Die Myotuben des Muskels enthalten Zellkerne vom Wachteltyp. Pfeile: Zellkerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 1500 : 1



13



14



15

Abbildung 13

Medialer Anteil des Musculus tracheo-thyreohyoideus * im Bereich seines Ansatzes am Os basihyoideum. 1: Os basihyoideum; 2: Os entoglossum; 3: quergetroffener Zungenbeinast; 4: Musculus hypoglossus obliquus. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 60 : 1

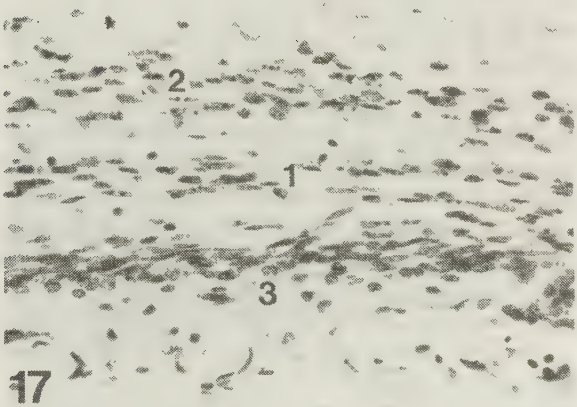
Abbildung 14

Ausschnittvergrößerung aus dem Musculus tracheo-thyreohyoideus in Abbildung 13. Die Muskelfasern enthalten Zellkerne vom Wachteltyp. 1: Os basihyoideum; Pfeile: Myotuben mit Kernen vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 365 : 1

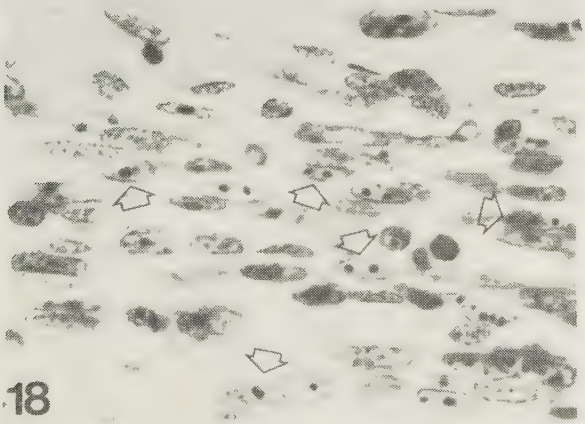
Abbildung 15

Ausschnitt aus dem Ansatz des Musculus tracheo-thyreohyoideus. Die kontraktilen Elemente des Muskels enthalten Zellkerne vom Wachteltyp. 1: Os basihyoideum; 2: Perichondrium; Pfeile: Zellkerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 1500 : 1

16



17



18

Abbildung 16

Leicht gegen die Frontalebene geneigter Sagittalschnitt eines nach 13-tägiger postoperativer Reinkubation fixierten Embryos (Stadium 42 H.H.). Am quergetroffenen Zungenbeinast ist sowohl der Ansatz des Musculus keratohyoideus als auch der Musculus keratoglossus zu erkennen. 1: Musculus keratohyoideus; 2: Musculus keratoglossus; 3: Zungenbeinast. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 60 : 1

Abbildung 17

Ausschnitt aus dem Ursprungsgebiet der Musculi keratohyoideus und keratoglossus am Zungenbeinast. Die Muskeln überlagern sich im dorso-lateralen Bereich des Zungenbeinastes. 1: Musculus keratohyoideus; 2: Musculus keratoglossus; 3: Zungenbeinast. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 640 : 1

Abbildung 18

Ausschnitt aus dem Ursprungsgebiet des Musculus keratohyoideus. Die Myotuben des Muskels sind durch Kerne vom Wachteltyp gekennzeichnet. Pfeile: Kerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 1500 : 1

3.2. Zur Herkunft der ventralen Kopfgelenksmuskulatur und zum Binde- und Stützgewebe im Bereich der Schädelbasis

Neben den in Punkt 3.1. erhobenen Befunden zur Herkunft der Zungenmuskulatur ergeben sich bei gleicher Operationsweise regelmäßig folgende Befunde.

Im Stadium 28 H.H. sind im Schädelbasisbereich zwei nebeneinander, durch Bindegewebe getrennt liegende Muskelblasteme zu erkennen, die ventral an kleinen Ausbuchtungen der Schädelbasis inserieren. Bei den Blastemen, die eine kranio-kaudale Ausrichtung aufweisen, handelt es sich um die der Musculi recti capitis ventralis lateralis und medialis (Abbildung 19). Die Differenzierung der Muskelblasteme ist der bei normalen Embryonen vergleichbar. Die Zellkerne der Myotuben enthalten die für Wachtelzellen charakteristische Kondensation des Heterochromatins (Abbildung 20). Im Stadium 40 H.H. sind aus den Blastemen nach Abgrenzung und weiterer Differenzierung regelrecht entwickelte ventrale Kopfgelenksmuskeln hervorgegangen (Abbildungen 21 und 22).

Die Untersuchung der im Stadium 28 H.H. noch knorpeligen Schädelbasis ergibt, daß die Bestandteile, die direkt mit der einstrahlenden Muskulatur in Kontakt stehen, wie die Muskulatur selbst, aus Zellen mit Kernen vom Wachteltyp aufgebaut sind (Abbildungen 23 und 24).

1
2
3
19

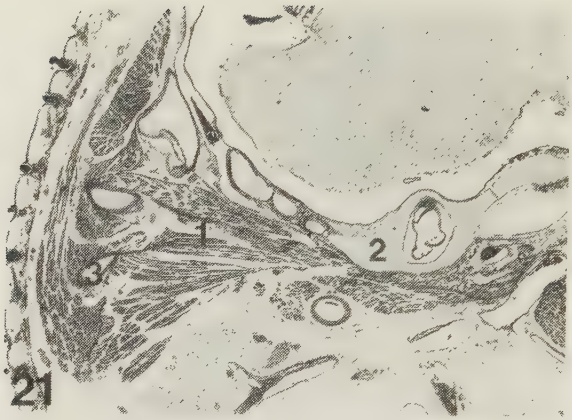
20

Abbildung 19

Ausschnittvergrößerung aus dem Schädelbasisbereich eines nach 5-tägiger postoperativer Wiederbebrütung fixierten Embryos (Stadium 28 H.H.). 1: Schädelbasis; 2: Muskelblastem des Musculus rectus capitis ventralis lateralis; 3: Muskelblastem des Musculus rectus capitis ventralis medialis. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 60 : 1

Abbildung 20

Ausschnitt aus dem mit 2 markierten Muskelblastem der Abbildung 19. Pfeile: Zellkerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 1800 : 1


1
2
3
21

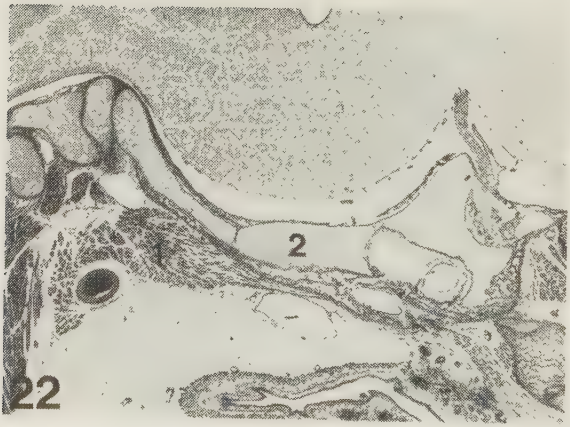

1
2
22

Abbildung 21

Sagittalschnitt durch den Wirbelsäulen-Schädelbasis-bereich eines nach 12-tägiger postoperativer Reinkubation fixierten Hühnerembryos (Stadium 40 H.H.). 1: Musculus rectus capitis ventralis lateralis; 2: Schädelbasis; 3: Processus transversus des zweiten Halswirbels. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 180 : 1

Abbildung 22

Sagittalschnitt durch den Wirbelsäulen-Schädelbasis-bereich eines nach 12-tägiger postoperativer Reinkubation fixierten Hühnerembryos (Stadium 40 H.H.). 1: Musculus rectus capitis ventralis medialis; 2: Schädelbasis. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 220 : 1

1
2
1
23

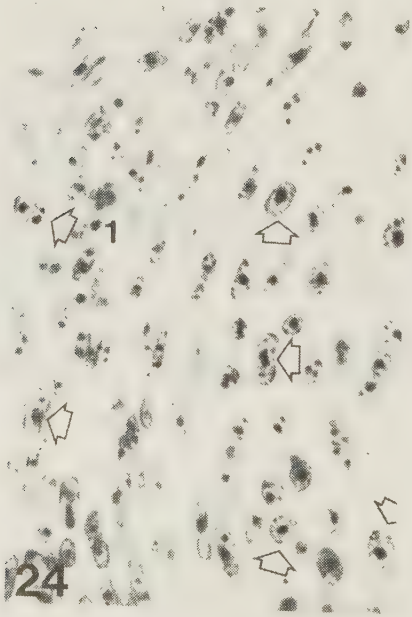

1
24

Abbildung 23

Ansatz des Musculus rectus capitis ventralis lateralis an der Schädelbasis eines operierten Hühnerembryos im Stadium 28 H.H.. 1: Schädelbasis; 2: Musculus rectus capitis ventralis lateralis. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 370 : 1

Abbildung 24

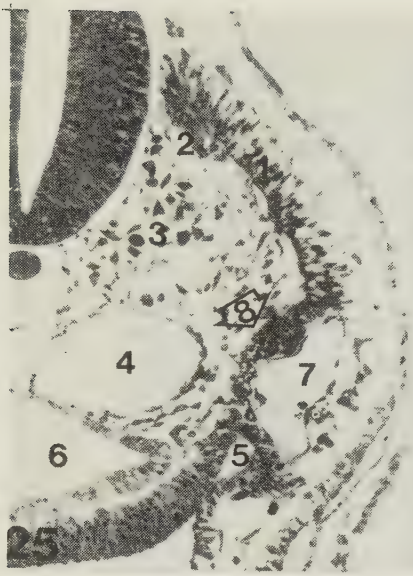
Ausschnittvergrößerung aus dem Bereich der Schädelbasis, an dem der Musculus rectus capitis ventralis lateralis ansetzt. 1: Perichondrium; Pfeile: Zellkerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 1500 : 1

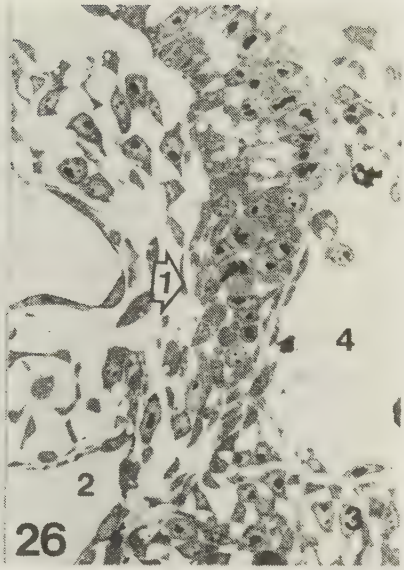
3.3. Zur Frühentwicklung der Zungenmuskulatur

3.3.1. Stadium 13 H.H.

Bei zwei Tage alten, normalen Hühnerembryonen haben sich die occipitalen Somiten soweit differenziert, daß voll ausgebildete Sklerotome und Dermatome entstanden sind (Abbildung 25). Ausgehend von der dorsomedialen Somitenkante haben sich zudem Myotome gebildet, die etwa ein Drittel der Ventralflächen der Dermatome einnehmen. Die ventro-lateralen Dermatomkanten sind nach medial umgebogen und es gehen von ihr Zellstränge aus, die in den Raum zwischen Coelombucht, Aorta und Darmrohr einzuwandern beginnen (Abbildungen 25 und 26).

Bei Embryonen, deren occipitale Somiten durch entsprechende Somiten gleichalter Wachtelembryonen ersetzt wurden, befinden sich nach 15 Stunden Wiederbebrütung (Stadium 13 H.H.) im Raum zwischen Aorta und Coelombucht Zellen, die Kerne vom Wachteltyp aufweisen (Abbildung 27).


2
3
8
4
7
6
5
25


1
4
2
3
26

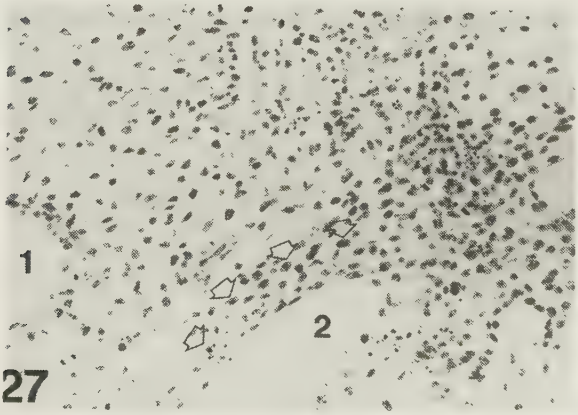

1
2
27

Abbildung 25

Transversaler Semidünnschnitt eines Hühnerembryos in Höhe der occipitalen Somiten am Ende des zweiten Bebrütungstages (Stadium 13 H.H.). 1: Dermatom; 2: Myotom; 3: Sklerotom; 4: Aorta; 5: Coelombucht; 6: Darmrohr; 7: Vena cardinalis anterior; 8: Zellstrang der ventro-lateralen Dermatomkante. Ca. 380 : 1

Abbildung 26

Transversal geführter Semidünnschnitt durch die ventro-laterale Dermatomkante eines Embryos im Stadium 13 H.H. 1: Zellstrang der ventro-lateralen Dermatomkante; 2: Aorta; 3: Epithel der Coelombucht; 4: Vena cardinalis anterior. Ca. 1600 : 1

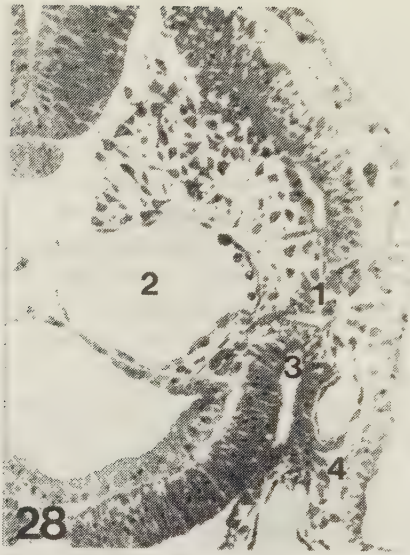
Abbildung 27

Transversalschnitt eines nach 15-stündiger postoperativer Reinkubation fixierten Hühnerembryos (Stadium 13 H.H.). 1: Aorta; 2: Coelombucht; Pfeile: Zellkerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 630 : 1

3.3.2. Stadium 14 H.H.

Bei 58 Stunden alten, normalen Embryonen haben sich die Myotome der occipitalen Somiten soweit entwickelt, daß sie nun etwa die Hälfte der Ventralflächen der Dermatome bedecken. Die Sklerotome weisen keine wesentlichen Veränderungen auf. Die ventro-lateralen Dermatomkanten sind noch nach medial umgebogen, haben sich aber leicht nach lateral in Richtung auf die Somatopleura hin verlagert (Abbildung 28). Sie weisen nicht mehr die streng epitheliale Struktur auf, vielmehr beginnen sich einige mesenchymale Zellen abzulösen. Der Übergangsbereich zur Somatopleura enthält zu diesem Zeitpunkt einzelne Zellen. Während sich die von den ventro-lateralen Dermatomkanten ausgehenden Zellstränge langsam aufzulösen beginnen, hat sich der Raum ventral der Aorta, medial der Coelombucht und dorsal des Darmrohres mit Zellmaterial angefüllt (Abbildung 28).

Bei Embryonen des Stadiums 14 H.H., bei denen im Stadium 10 H.H. die occipitalen Somiten zwei und drei durch entsprechende Somiten eines gleichalten Wachtelembryos ersetzt worden sind, ist der Raum ventral der Aorta, medial der Coelombucht und dorsal des Darmrohres mit Zellen angefüllt, die Kerne vom Wachteltyp aufweisen (Abbildung 29).


2
1
3
4
28

1
2
3
29

Abbildung 28

Transversaler Semidünnschnitt eines Hühnerembryos in Höhe des zweiten Somiten im Stadium 14 H.H. 1: Ventro-laterale Dermatomkante; 2: Aorta; 3: Coelombucht; 4: Somatopleura. Ca. 630 : 1

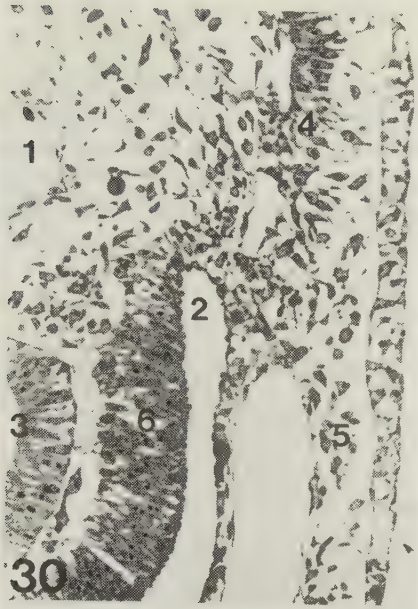
Abbildung 29

Transversalschnitt eines operierten Hühnerembryos im Stadium 14 H.H. in Höhe des zweiten Somiten. 1: Aorta; 2: Coelombucht; 3: Darmrohr; Pfeile: Kerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 610 : 1

3.3.3. Stadium 15 H.H.

Bei normalen Embryonen des Stadiums 15 H.H. steht die ventro-laterale Dermatomkante nunmehr über der Somatopleura (Abbildung 30). Die epitheliale Struktur der ventro-lateralen Dermatomkante ist aufgelockert. Der Raum von der Dermatomkante ab bis in die Eingangsebene der Somatopleura hinein ist mit Zellmaterial angefüllt (Abbildung 30). Das Myotom ist noch nicht so weit entwickelt, daß es die ganze Ventralfläche des Dermatoms bedeckt. Im Raum zwischen Darmrohr, Coelombucht und Aorta befindet sich weiterhin Zellmaterial, wobei der ventrale Abschnitt dieses Raumes deutlich mehr Zellen beherbergt, als der dorsale (Abbildung 30). Der Spalt zwischen dem Epithel des Darmrohres und dem Serosaepithel der Coelombucht ist breiter als im Stadium 13 H.H..

Bei 2 1/2 Tage alten, operierten Hühnerembryonen befindet sich bis über das Niveau der Coelombucht hinaus eine Zellgruppe im Mesenchym der Somatopleura, die Kerne vom Wachteltyp enthält (Abbildung 31).


1
4
2
3
6
5
30

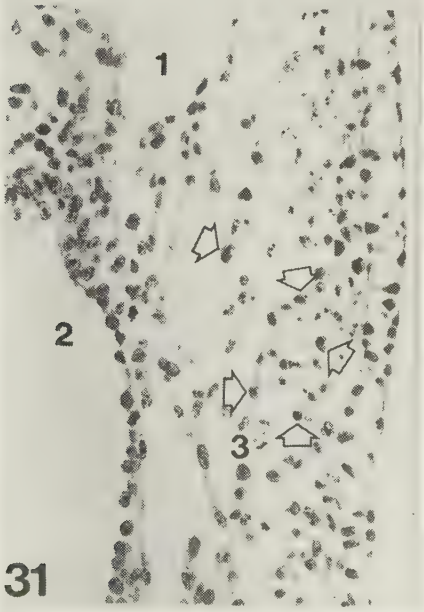

1
2
3
31

Abbildung 30

Transversal geführter Semidünnschnitt durch den ventro-lateralen Körperabschnitt eines Hühnerembryos im Stadium 15 H.H. in Höhe der occipitalen Somiten. 1: Aorta; 2: Coelombucht; 3: Darmrohr; 4: ventro-laterale Dermatomkante; 5: Somatopleura; 6: Serosaepithel der Coelombucht. Ca. 600 : 1

Abbildung 31

Transversal geführter Schnitt eines operierten Embryos durch die Somatopleura in Höhe des dritten Somiten nach 2 1/2-tägiger Wiederbebrütung. 1: Vena cardinalis anterior; 2: Coelombucht; 3: Somatopleura; Pfeile: Kerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 630 : 1

3.3.4. Stadium 16 H.H.

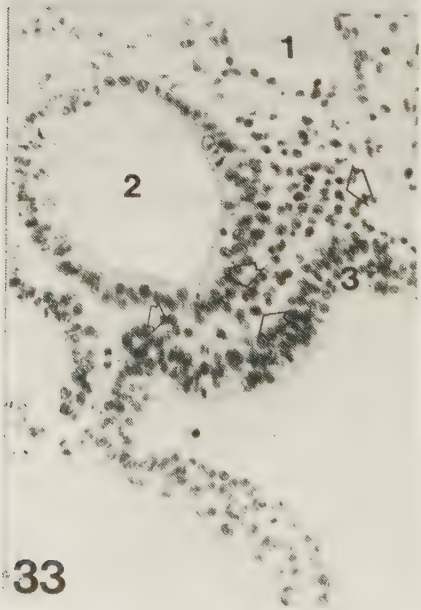
Im Stadium 16 H.H. bilden die Myotome der occipitalen Somiten an ihren ventralen Kanten Fortsätze, die im weiteren Verlauf der Entwicklung als Zellstränge in die Somatopleura vorwachsen. Die Dermatomzellen verlassen den epithelialen Zellverband entlang des gesamten Dermatoms, um sich an der Bildung der Haut zu beteiligen. In dem sich verbreiternden Raum zwischen Darmrohr und Serosaepithel der Coelombucht sind vereinzelt Zellen nachweisbar.

3.3.5. Stadium 17 H.H.

Bei drei Tage alten, normalen Hühnerembryonen ist der ventrale Zellfortsatz des Myotoms schon bis zum Niveau der Coelombucht in das Mesenchym der Somatopleura vorgewachsen und bildet zusammen mit Zellen des Dermatoms einen gut gegen das Stroma abgrenzbaren Zellstrang (Abbildung 32).

Bei drei Tage alten, operierten Hühnerembryonen hat sich der Spalt zwischen Darmrohr und Serosaepithel der Coelombucht weiter vergrößert und beherbergt Zellen, die eindeutig dem Transplantat zugerechnet werden können (Abbildung 33).

32



33

Abbildung 32

Transversaler Semidünnschnitt durch einen drei Tage alten Embryo (Stadium 17 H.H.) in Höhe der occipitalen Somiten. 1: Aorta; 2: Somatopleura; 3: Myotom. Ca. 370 : 1

Abbildung 33

Transversalschnitt eines nach 24-stündiger postoperativer Reinkubation fixierten Hühnerembryos (Stadium 17 H.H.). 1: Aorta; 2: Darmrohr; 3: Serosaepithel der Coelombucht; Pfeile: Zellkerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 610 : 1

3.4. Zur regionalspezifischen Entwicklung der Zungenmuskulatur

Nach Austausch der occipitalen Somiten durch solche, aus denen während der Normogenese Flügelmuskeln entstehen (brachiale Somiten), ist die Ausprägung der Lage, Form und Struktur der Zungenmuskeln wie folgt.

Nach 10-tägiger postoperativer Reinkubation haben sich sowohl die Muskeln innerhalb des Zungenkörpers, als auch die äußeren Zungenmuskeln ortsgemäß, entsprechend der Normogenese entwickelt. Sowohl die Lage und Form der einzelnen Zungenmuskeln, als auch ihr Differenzierungsgrad entspricht der Entwicklung bei normalen Embryonen. Abbildung 34 zeigt dies zum Beispiel am Ursprung des Musculus tracheotyreoyoideus am Schildknorpel und des Musculus keratohyoideus im Bereich seines Ansatzes am hier quergetroffenen Zungenbeinast und durch den Musculus keratoglossus. Eine Vergrößerung aus dem Ursprungsgebiet des Musculus tracheo-tyreohyoideus demonstriert, daß es sich um Muskeln handelt, die aus den heterotop transplantierten Somiten hervorgegangen sind, da ihre Myotuben Zellkerne vom Wachteltyp aufweisen (Abbildung 35).

1
4
5
2
3
34

35

Abbildung 34

Sagittalschnitt eines nach 10-tägiger postoperativer Reinkubation fixierten Hühnerembryos durch den Zungengrund und Kehlkopfbereich. 1: Musculus tracheo-thyreohyoideus; 2: Musculus keratohyoideus; 3: Musculus keratoglossus; 4: Schildknorpel; 5: Zungenbeinast. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 60 : 1

Abbildung 35

Ausschnittvergrößerung aus dem Musculus tracheo-thyreohyoideus in Abbildung 34. Pfeile: Kerne vom Wachteltyp. Feulgen-Reaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 1800 : 1

4. Diskussion und Schlußfolgerungen

4.1. Herkunft der Zungenmuskulatur

Die vorgelegten Ergebnisse der experimentell embryologischen Untersuchungen zur Herkunft der Zungenmuskulatur erlauben folgende Aussagen:

Nach experimenteller Erzeugung interspezifischer Chimären von jungen Hühnerembryonen mit occipitalen Somiten von Wachtelembryonen läßt sich die einleitend formulierte Frage, ob die Muskulatur der Zunge somitischen Ursprungs ist, oder sich aus dem Mesenchym des Mundbodens differenziert, dahingehend beantworten, daß Zellen aus dem occipitalen Somitenmesoderm nach ventral und kranial auswandern, um sich später in situ zu Muskelfasern der Zungenmuskeln zu differenzieren.

Sowohl die Muskeln innerhalb des Zungenkörpers, die Musculi hypoglossi recti und obliqui, als auch die äußeren Zungenmuskeln, die Musculi tracheo-thyreohyoideus, keratohyoideus, keratoglossus, weisen postoperativ in den Zellkernen der kontraktilen Elemente die für Wachtelzellen typische Kondensation des Heterochromatins auf. Sie sind somit aus dem Transplantat entstanden.

Im Stadium 28 H.H. befinden sich die aus den Somiten stammenden Zellen im Unterkiefer-Halsbereich ventral der Trachea und des Oesophagus sowohl kranial als auch kaudal der Zungenbeinanlage. Im Stadium 32/33 H.H. sind diese Muskelblastemzellen in die sich ent-

wickelnde Zunge vorgedrungen. Im Stadium 39/40 H.H. haben sich die einzelnen Zungenmuskeln abgegliedert und ihre Position am Zungenbein eingenommen. Charakteristischerweise vollzieht sich die Muskelindividuation so, daß sich aus dem ursprünglich kranial der Zungenbeinanlage befindlichen Muskelblastem die Muskeln entwickeln, die später innerhalb des Zungenkörpers liegen, während die Muskeln, die außerhalb des eigentlichen Zungenkörpers, im Bereich des mittleren und dorsalen Zungenbeinabschnittes angesiedelt sind, aus dem Blastem entstehen, das sich kaudal der Zungenbeinanlage befand.

Die vorgestellten Ergebnisse stehen im Einklang mit den deskriptiv erarbeiteten Resultaten von MOLLIER (1895); CORNING (1895); NEAL (1897); VAN BEMMELEN (1889) und GOODRICH (1918) bei Amphibien und Reptilien, wonach die Entwicklung der hypoglossären Muskulatur durch das Auswachsen ventraler Myotombestandteile der ersten fünf Somiten beginne.

Auch FRORIEP (1882, 1885) beschrieb einen somitischen Ursprung der Zungenmuskulatur, wobei er bei der Untersuchung von Säugetierembryonen einen Zusammenhang zwischen der Wanderung und dem Verlauf des Nervus hypoglossus und der Entwicklung der Zungenmuskulatur herstellte.

Dagegen kann die von LEWIS (1910) aufgrund rein deskriptiver Untersuchungen an menschlichen Embryonen aufgestellte Hypothese, nach der sich die Zungenmuskeln lokal aus dem Mesenchym des Mundbodens differenzieren sollen, durch die an Vogelembryonen gewonnenen Befunde nicht bestätigt werden.

Ebenso ergab sich beim Vogelembryo kein Anhalt für die von PONS-TORTELLA (1936) vertretene Konzeption, nach der bei menschlichen Embryonen der Musculus transversus linguae als Binnenmuskel der Zunge in situ durch Umwandlung embryonaler Bindegewebszellen in Muskelzellen gebildet würde.

Vielmehr stimmen die dargestellten Ergebnisse mit den Befunden der experimentellen Untersuchungen von DETWILER (1929, 1937); DEUCHAR (1958) und HAZELTON (1970) überein, die aufgrund von Kohlemarkierungen, Exstirpationsexperimenten, sowie Implantation von 3 H-Thymidin markierter Somiten zu der Auffassung gelangten, daß das Blastem der Zungenmuskulatur aus den occipitalen Somiten hervorgeht.

Derartige Beziehungen zwischen der Entwicklung von Skelettmuskulatur und der Somitenentwicklung konnten schon von CHRIST et al. (1974 b, 1977 a, 1977 b) und CHEVALLIER et al. (1976, 1977 a, 1978) nachgewiesen werden, wonach sich zum Beispiel vor der Muskelentwicklung der Extremitäten undifferenzierte "myogenic stem cells" aus der ventro-lateralen Dermatomkante abgliedern und in die Somatopleura des Anlagegebietes der oberen und unteren Gliedmaßen einwandern, indem sie das im subektodermalen Raum bevorzugt transversal ausgerichtete Netzwerk von kollagenen Fibrillen als Substrat benutzen. ((JACOB et al. (1978, 1979))).

Das Zellmaterial des Zungenbeines, der bindegewebigen Zwischenschichten, der Faszien und Sehnen, als auch die des intramuskulären Bindegewebes weisen die für Zellen des Wirtsorganismus typische Heterochromatinstruktur auf. Sie entstammen somit nicht den occipitalen Somiten. Aus den Arbeiten von LIÈVRE (1974, 1978), LIÈVRE und LE DOUARIN (1975) geht hervor, daß dem Neu-

ralleistenmaterial bei der Bildung von Binde- und Stützgewebe im Bereich des Gesichtschädels, des Unterkiefer-Halsbereiches und des Nackens besondere Beachtung geschenkt werden muß. So konnten sie zum Beispiel nachweisen, daß sich das Zungenbein des Huhnes aus Neuralleistenzellen des Rhomb- und des Mesencephalon entwickelt, und daß das Bindegewebe des Unterkiefers, der Zunge und des ventro-lateralen Anteils des Nackens ebenfalls aus der Neuralleiste entsteht. Zusätzlich sollen Neuralleistenzellen an der Bildung von Muskeln im Bereich der Visceralbögen und der Zunge beteiligt sein, indem sich die Neuralleistenzellen zu bindegewebs- und quergestreiften Muskelzellen differenzieren, wobei allerdings Befundmaterial zur Zungenmuskulatur nicht gezeigt wird.

4.2. Herkunft der ventralen Kopfgelenksmuskulatur und zum Binde- und Stützgewebe im Bereich der Schädelbasis

Neben den nach orthotoper Somitentransplantation dargelegten Ergebnissen zur Entwicklung der Zungenmuskulatur können zu den bei gleicher Operationsweise erhobenen Befunden zur ventralen Kopfgelenksmuskulatur folgende Aussagen gemacht werden:

1.)
Die kontraktilen Elemente der Musculi recti capitis ventralis medialis und lateralis sind regelmäßig aus Zellen aufgebaut, die dem Transplantat entstammen. Somit bildet sich die ventrale Kopfgelenksmuskulatur ebenfalls aus den occipitalen Somiten.

2.)
Die Schädelbasisbereiche, die sich direkt im Ansatzgebiet der ventralen Kopfgelenksmuskeln befinden, entwickeln sich regelmäßig aus dem Transplantat und besitzen deshalb ebenfalls einen somitischen Ursprung.

CHRIST et al. (1978 b) fanden ebenfalls nach experimenteller Erzeugung interspezifischer Chimären, indem sie den ersten Somiten eines Hühnerembryos im Stadium 12 H.H. durch einen brachialen Somiten von einem Wachtelembryo ersetzt hatten, daß der Musculus rectus capitis ventralis medialis aus dem ersten Somiten entstanden sein mußte, da sie die Zellen der Myotuben aufgrund ihrer Kernstruktur dem Implantat zuordnen konnten.

Zu der Frage, welches Somitenderivat das Material für die ventrale Kopfgelenksmuskulatur liefert, können hier lediglich Vermutungen angestellt werden. Möglicherweise handelt es sich um das Zellmaterial, welches von den ventro-lateralen Dermatomkanten oder von ventralen Myotomfortsätzen im Stadium 15 und 16 H.H. in die Somatopleura abgegeben wird.

Gleiches gilt auch für die Frage, aus welchem Somitenderivat sich die Muskelansatzstellen der ventralen Kopfgelenksmuskulatur an der Schädelbasis entwickeln. In diesem Falle wären die Sklerotome der occipitalen Somiten in Betracht zu ziehen. Diese Vermutung würde auch den von WAGNER (1949) und JOHNSTON (1966) gemachten Aussagen, nach denen kraniale Neuralleistenzellen sich an der Bildung der Schädelbasis, der Visceralbögen und des Gesichtsschädels beteiligen, nicht widersprechen, da die Transplantationsexperimente der vorliegenden Arbeit im Stadium 10 H.H., also vor der Auswanderung der Neuralleistenzellen stattfanden und die Transplantate frei von Neuralrohrmaterial waren.

4.3. Frühentwicklung der Zungenmuskulatur

Die experimentellen Untersuchungen zur Herkunft der Zungenmuskulatur haben den Nachweis erbracht, daß sowohl die inneren als auch die äußeren Zungenmuskeln aus occipitalen Somitenzellen hervorgehen. Dabei blieb zunächst die Frage unbeantwortet, welche Somitenderivate das Material für die Zungenmuskeln liefern und nach welchen Modalitäten die Frühentwicklung der Zungenmuskulatur erfolgt.

Zur Klärung dieser Problematik wurden sowohl Embryonen, die in der oben angegebenen Weise operiert worden waren, als auch normale Embryonen untersucht.

Anhand der vorgelegten Ergebnisse der deskriptiven Studien und gestützt durch die experimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß zunächst zu Beginn des Stadiums 13 H.H. an den ventro-lateralen Dermatomkanten der occipitalen Somiten Zellstränge entstehen, die in den Raum zwischen Coelombucht, Aorta und Darmrohr ausgerichtet sind und in ihn einzuwachsen scheinen.

Bis zum Ende des Stadium 14 H.H. wandern laufend Zellen aus den Zellsträngen der ventro-lateralen Dermatomkanten aus und siedeln sich im Raum ventral der Aorta, medial der Coelombucht und dorsal des Darmrohres an. Gleichzeitig verlagert sich die ventrolaterale Dermatomkante nach lateral, zur Somatopleura hin.

Im Stadium 15 H.H. gliedern sich dort wiederum Zellen aus ihr ab, um in die Somatopleura einzuwandern. Das

Zellmaterial im subaortalen Raum hat sich währenddessen nach ventral, in Richtung auf den sich verbreiternden Spalt zwischen Darmrohr und Serosaepithel der Coelombucht verlagert, um vom Stadium 16 H.H. an in diesen Spalt einzuwandern.

Im Stadium 17 H.H. hat es fast die Medianlinie erreicht und beginnt schließlich im Raum ventral des Darmrohres und dorsal des Serosaepithels der Coelombucht in kaudo-kranialer Richtung als mesenchymale Zellformation in den Unterkiefer-Halsbereich vorzuwachsen. Zum gleichen Zeitpunkt bilden auch die Myotome der occipitalen Somiten an ihren ventralen Kanten Fortsätze, die im weiteren Verlauf der Entwicklung als gut gegen das Stroma der Somatopleura abgrenzbare Zellstränge in die Somatopleura einwachsen.

Das Zellmaterial für die Zungenmuskulatur stammt demzufolge aus den ventro-lateralen Dermatomkanten der occipitalen Somiten.

Das Material der ventro-lateralen Dermatomkanten der occipitalen Somiten, das im Stadium 15 H.H. in die Somatopleura abgegeben wird und das Myotommaterial, das im Stadium 16 H.H. ebenfalls in die Somatopleura einwächst, bildet möglicherweise die ventrale Kopfgelenksmuskulatur und den Musculus semi-spinalis capitis.

HUNTER (1935) ging davon aus, daß sich die von ihm beschriebene Zellverdichtung ventral der occipitalen Somiten, aus den Myotomen entwickelt. Er verband mit dem Auftreten dieser Zellverdichtung den Beginn der Zungenmuskulaturentwicklung und bezeichnete sie in

Anlehnung an Froriep fortan als "Zungenleiste". EDGEWORTH (1935) unterstützte die Aussagen von Hunter, indem er ventrale Anteile der occipitalen Somiten für den Ursprung der Zungenmuskulatur hielt.

Die Experimente von DETWILER (1929) und DEUCHAR (1958) brachten keine wesentlichen neuen Beiträge zu der Frage, welches Derivat der occipitalen Somiten definitiv die Matrix für die Zungenmuskeln bildet, da sie in ihren Experimenten lediglich den somitischen Ursprung der Zungenmuskulatur nachweisen wollten und auf weitere Untersuchungen verzichteten.

Die von HAZELTON (1970) vorgelegten experimentellen Befunde können keine Bestätigung finden. Er vertrat ebenfalls die Auffassung, daß die hypoglossale Muskulatur den Myotomen der occipitalen Somiten entstamme.

Lediglich BATES (1948), der sich ebenfalls mit sehr jungen Embryonen befaßte, wich von der gängigen Meinung, die Myotome der Somiten stellten die Ursprungsorte für Skelettmuskeln dar, ab, indem er zwar auf eine eindeutige Zuordnung zu den Somitenderivaten verzichtete, auf der anderen Seite um eine morphologisch exakte Bestimmung bemüht war. Er beschrieb diffuse Zellproliferationen an den ventrolateralen Kanten der ersten sechs Somiten, die er für den Beginn der Zungenmuskulaturentwicklung hielt. Möglicherweise handelt es sich dabei um Proliferationen der ventro-lateralen Dermatomkanten.

Daß als Ursprungsort für die aus Somiten entstehenden Skelettmuskeln nicht ausschließlich das Myotom des Somiten in Frage kommt, konnten CHRIST et al. (1974 b; 1977 a; 1977 b; 1978 a; 1980) anhand von Transplantationsexperimenten nachweisen. Die Extremitätenmuskulatur bildet sich demnach aus myogenen Stammzellen, die von der ventro-lateralen Dermatomkante der brachialen und pelvinen Somiten in das Anlagegebiet der Extremitäten eingewandert sind. Die Bauchmuskulatur entwickelt sich demgegenüber aus Fortsätzen der thorakalen Somiten, die Dermatom- und Myotombestandteile enthalten.

4.4. Regionalspezifische Entwicklung der Zungenmuskulatur

Wie in Punkt 3.1. und 4.1. dargelegt, entwickeln sich aus den zwei ursprünglich kaudal und kranial der Zungenbeinanlage gelegenen Muskelblastemen die Muskeln innerhalb des Zungenkörpers und die, die außerhalb dessen im Bereich des mittleren und dorsalen Zungenbeinanteils angesiedelt sind. Dabei blieb zunächst die Frage unbeantwortet, ob die occipitalen Somiten hinsichtlich der Ausprägung der spezifischen Muskelformen determiniert sind.

Zur Klärung dieser Frage wurden occipitale Somiten von jungen Hühnerembryonen gegen brachiale Somiten von gleichalten Wachtelembryonen ausgetauscht. Es entwickelten sich Embryonen mit einem normal ausgebildeten Unterkiefer-Zungenbereich, der normogenetisch regelrecht und bilateral symmetrisch angeordnete Zungenmuskeln aufwies.

Die Ergebnisse der Experimente zeigen, daß Somiten, aus denen in der Normogenese zum Beispiel Extremitätenmuskeln entstehen, unter experimentellen Bedingungen ebensogut myogene Zellen für die Zungenmuskulatur liefern können. Daraus kann gefolgert werden, daß die Ausprägung der spezifischen Muskelformen der Zungenmuskeln nicht durch das myogene Zellmaterial bestimmt wird.

Diese Auffassung entspricht den Ergebnissen von CHEVALLIER et al. (1977 a) und CHRIST et al. (1977 b und 1978 b), die die an das Anlagegebiet der Gliedmaßen angrenzenden Somiten durch solche ersetzt hatten, aus denen während der Normogenese keine Gliedmaßenmuskeln entstehen, und postoperativ regelrecht entwickelte Extremitätenmuskeln nachweisen konnten.

Als ein anderer möglicher Faktor für die Steuerung der Muskelindividuation kommt der die Zungenmuskulatur innervierende Nervus hypoglossus in Betracht, der bei der Entwicklung der Zungenmuskeln dem myogenen Zellmaterial folgt und vor der Abgrenzung der Einzelmuskelblasteme in die Muskelanlagen einwächst.

So hat WORTHAM (1948) bei der Entwicklung der unteren Extremität des Hühnchens den einwachsenden Spinalnerven für den Ablauf der Muskelindividuation verantwortlich gemacht.

ČIHÁK et al. (1978) beobachteten, daß in experimentell denervierten Extremitäten von Hühnerembryonen die Regulation der Muskelentwicklung und die Differenzierung gestört war.

Demgegenüber stehen die Ergebnisse der Untersuchungen von SHELLSWELL (1977 a) und CHRIST et al. (1979), die, nachdem sie in situ experimentell das Einwachsen von Nerven in die oberen Gliedmaßen von Hühnerembryonen verhindert hatten, übereinstimmend in den dann nervenfreien Extremitäten normale Anordnungen der Muskelblasteme beobachten konnten.

GRIM und CARLSON (1979) machten deutlich, nachdem sie an Amphibien durch Amputation nervenfreie, regenerierte Extremitäten herstellten, daß das Nervenmaterial nicht an der Unterteilung der Muskelblasteme in die Einzelmuskeln teilnimmt.

Denkbar ist, daß bei der Muskelindividuation der Zungenmuskeln im Prinzip ähnliche Mechanismen, wie die von SHELLSWELL (1977 a) und CHRIST et al. (1979) bei der oberen Extremität postulierten in Betracht gezogen werden müssen. Dazu müssen jedoch noch weitere

experimentelle Untersuchungen vorgenommen werden.

Da sowohl das myogene Zellmaterial als auch wahrscheinlich das Nervensystem nicht für die regionalspezifische Ausprägung der Zungenmuskeln in Frage kommt, wäre zu prüfen, ob vielmehr ortsgemäße Einflüsse des mesenchymalen Stromas des Zungengrundes und des Zungenkörpers hierfür herangezogen werden müssen.

Die jüngsten Ergebnisse von CHRIST et al. (1978, 1979) und JACOB et al. (1978, 1979) zur ortspezifischen Differenzierung des Bindegewebes, zum Beispiel seine Rolle bei der Migration von myogenen Stammzellen,bei der Entwicklung der Extremitätenmuskulatur und seine Funktion bei der regionalspezifischen Ausprägung von Muskelformen, geben Anhaltspunkte dafür, daß den Bindegewebselementen bei embryonalen Entwicklungsvorgängen besondere Bedeutung zugeschrieben werden muß.

5. Zusammenfassung

1.)
Mit Hilfe der von LE DOUARIN und BARQ (1969) vorgeschlagenen experimentell-embryologischen Technik der Keimhybridisierung, die es ermöglicht, Zellwanderungen auch über lange Zeiträume zu verfolgen, wurde die Entwicklung der Zungenmuskulatur untersucht.

2.)
Sowohl die Muskeln innerhalb des Zungenkörpers, die Musculi hypoglossi rectus und obliquus, als auch die äußeren Zungenmuskeln, die Musculi tracheothyreohyoideus, keratohyoideus, keratoglossus, entwickeln sich aus Zellen, die aus den occipitalen Somiten ausgewandert sind.

3.)
Die ventralen Kopfgelenksmuskeln, die Musculi recti capitis ventralis und medialis entwickeln sich ebenfalls aus Zellen, die den occipitalen Somiten des Embryos entstammen.

4.)
Die occipitalen Somiten haben Anteil an der Entwicklung von Binde- und Stützgewebe im Bereich der Schädelbasis. Die Anteile der Schädelbasis, die sich direkt im Ansatzgebiet der ventralen Kopfgelenksmuskulatur befinden, entwickeln sich regelmäßig aus Zellmaterial occipitaler Somiten.

5.)
Das myogene Zellmaterial für die kontraktilen Elemente der Zungenmuskulatur gliedert sich, beginnend mit dem Stadium 13 H.H., aus den ventro-lateralen Dermatomkanten der occipitalen Somiten ab und wandert in medio-ventraler Richtung nach kranial in den Unterkiefer-Halsbereich.

6.)
Das myogene Zellmaterial für die ventrale Kopfgelenksmuskulatur setzt sich vermutlich aus Zellen der occipitalen Dermatome und Myotome zusammen und wird im Stadium 15 H.H. bzw. 16 H.H. in die Somatopleura abgegeben.

7.)
Die Ausprägung der spezifischen Formen der Zungenmuskulatur wird nicht durch die occipitalen Somiten selbst, sondern eher durch ortsgemäße Einflüsse des mesenchymalen Stromas des Zungengrundes und des Zungenkörpers bestimmt, wobei CHRIST et al. (1978, 1979) und JACOB et al. (1978, 1979) Anzeichen dafür gefunden haben, daß das umgebende Bindegewebe die regionalspezifische Muskelindividuation steuert.

6. Literaturverzeichnis

BATES, M.N.:

The early development of the hypoglossal musculature in the cat.
Am. J. Anat. 83, 329 - 357 (1948)

BERESFORD, B., LE LIÈVRE, C., RATHBONE, M.P.:

Chimaera studies of the origin and formation of the pectoral musculature of the avian embryo.
J. Exp. Zool. 205, 321 - 326 (1978)

BOYD, J.D.:

Development of the striated muscle.
In: Structure and Function of Muscle. (ed. G.H. Bourne), Band 1, 63 - 85, Academic Press, New York 1960

CARLSON, B.M.:

The regeneration of skeletal muscle - review.
Amer. J. Anat. 137, 119 - 150 (1973)

CHEVALLIER, A., KIENY, M., MAUGER, A.:

Sur l'origine de la musculature de l'aile chez les oiseaux.
C.R. Acad. Sc. Paris 282, 309 - 311 (1976)

CHEVALLIER, A., KIENY, M., MAUGER, A.:

Limb-somite relationship: origin of the limb musculature.
J. Embryol. exp. Morph. 41, 245 - 258 (1977 a)

CHEVALLIER, A., KIENY, M., MAUGER, A., SENGEL, P.:

Developmental fate of the somitic mesoderm in the chick embryo.
In: Vertebrate Limb and Somite Morphogenesis (Ede, D.A.; Hinchliffe, J.R. and Balls, M. eds.) pp. 421 - 432, Cambridge University Press (1977 b)

CHEVALLIER, A:

Etude de la migration des celles somitiques dans le mésoderme somatopleural de l'ébauche de l'aile.
Wilhelm Roux's Arch. 184, 57 - 73 (1978)

CHIBON, P.:

Analyse par la méthode marquage nucléaire a là thymidine tritiée des derivés de la crête neurale céphalique chez l'urodéle Pleurodeles waltlii Michah.
C.R. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris 259, 3624 - 3637 (1964)

CHIBON, P.:

Marquage nucléaire par la thymidine tritiée des dérivés de la crête neurale chez l'Amphibien Urodèle Pleurodeles waltlii Michah.
J. Embryol. exp. Morph. 18, 343 - 358 (1967)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

Experimentelle Untersuchungen zur Entwicklung der Brustwand beim Hühnerembryo.
Experientia (Basel) 30, 1449 - 1451 (1974 a)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

Über den Ursprung der Flügelmuskulatur. Experimentelle Untersuchungen an Wachtel- und Hühnerembryonen.
Experientia (Basel) 30, 1446 - 1448 (1974 b)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

Über die Herkunft der Musculi pectorales major et minor. Experimentelle Untersuchungen an Wachtel- und Hühnerembryonen.
Verh. Anat. Ges. 70, 1007 - 1011 (1976)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

Experimental analysis of the origin of the wing musculature in avian embryos.
Anat. Embryol. 150, 171 - 186 (1977 a)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

Experimentelle Befunde zur Muskelentwicklung in den Extremitäten von Hühnerembryonen.
Verh. Anat. Ges. 71, 1231 - 1237 (1977 b)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

An experimental study on the relative distribution of the somitic and somatic plate mesoderm to the abdominal wall of avian embryos.
Experientia 34, 241 - 242 (1978 a)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

Zur Frage der regionalen Determination der frühembryonalen Muskelanlagen. Experimentelle Untersuchungen an Wachtel- und Hühnerembryonen.
Verh. Anat. Ges. 72, 353 - 357 (1978 b)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

On the formation of the myotomes in avian embryos. An experimental and scanning electron microscope study.
Experientia 34, 514 - 516 (1978 c)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

Experimentelle Untersuchungen zum Problem der Muskelindividuation in den Extremitäten von Vogelembryonen.
Verh. Anat. Ges. 73, 537 - 544 (1979)

CHRIST, B., JACOB, H.J., JACOB, M.:

Über die Entwicklung der Bauchmuskulatur. I. Experimentelle Untersuchungen an Vogelembryonen.
Verh. Anat. Ges. 75, 521 - 523 (1981)

ČIHÁK, R., DOSCOČIL, M., SEICHERT, V.:

Some morphogenetic aspects of the aneurogenic and explanted limb primordia.
In: XIXth Morphological Congress, Symposia (ed. E. Klika) pp. 119 - 125, Universität Karlova, Prag, 1978

CORNING, H.K.:

Über die Entwicklung der Zungenmuskulatur bei Reptilien.
Anat. Anz. 10, 165 - 175 (1895)

DETWILER, S.R.:

The development of the spinal cord in Amblystoma embryos following unilateral myotomectomy.
J. exp. Zool. 52, 325 - 349 (1929)

DEUCHAR, E.M.:

Experimental demonstration of tongue muscle origin in chick embryos.
J. Embryol. exp. Morph. 6, 527 - 529 (1958)

DOSSEL, W.E.:

Preparation of tungsten micro-needles for use in embryonic research.
Lab. Invest. 7, 171 - 173 (1958)

EDGEWORTH, F.H.:

Development of the head muscles in Gallus domesticus and the morphology of the head muscles in the Sauropsida.
J. Micr. Sci. 51, 511 - 556 (1935)

FEULGEN, R., ROSSENBECK, H.:

Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten.
Hoppe.Seyler's Z. Physiol. Chem. 135, 203 - 252 (1924)

FRORIEP, A.:

Über ein Ganglion des Hypoglossus und Wirbelanlagen in der Occipitalregion.
Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt. 1882, 279 - 302 (1882)

FRORIEP, A.:

Über Anlagen von Sinnesorganen am Facialis, Glossopharyngeus und Vagus, über die genetische Stellung des Vagus zum Hypoglossus, und über die Herkunft der Zungenmuskulatur.
Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt. 1885, 1 - 55 (1885)

GOODRICH, E.S.:

On the development of the segments of the head in Scyllium.
Quart. J. Micr. Sci. 63, 1 - 30 (1918)

GRIM, M., CARLSON, B.M.:

The formation of muscles in regenerating limbs of the newt after denervation of the blastema.
J. Embryol. exp. Morph. 54, 99 - 111 (1979)

HAMBURGER, V., HAMILTON, H.L.:

A series of normal stages in the development of the chick embryo.
J. Morph. 88, 49 - 92 (1951)

HARA, K.:

Micro-surgical operation on the chick embryo in ovo without vital staining. A modification of the intra-coelomic grafting technique.

Mikroskopie 27, 267 - 270 (1971)

HAZELTON, R.D.:

A radioautographic analysis of the migration and fate of cells derived from the occipital somites in the hypoglossal musculature.
J. Embryol. exp. Morph. 24, 455 - 466 (1970)

HUNTER, R.M.:

The development of the anterior postotic somites in the rabbit.
J. Morph. 57, 501 - 531 (1935)

HUNTER, R.P.:

The early development of the hypoglossal musculature of the chick.
J. Morph. 57, 473 - 500 (1935)

JACOB, M., CHRIST, B., JACOB, H.J.:

On the migration of myogenic stem cells into the prospective wing region of chick embryos.
Anat. Embryol. 153, 179 - 193 (1978)

JACOB, M., CHRIST, B., JACOB, H.J.:

The migration of myogenic cells from the somites into the leg region of avian embryos.
Anat. Embryol. 157, 291 - 309 (1979)

JOHNSTON, M.C.:

A radioautographic study of the migration and fate of cranial neural crest cells in the chick embryo.
Anat. Rec. 156, 142 - 156 (1966)

KALLIUS, E.:

Beiträge zur Entwicklung der Zunge. Teil II: Vögel.
Anat. Hefte, Abt. 1, 28, 309 - 586 (1905)

KELLY, A., ZACKS, S.:

The histogenesis of rat intercostal muscle.
J. Cell Biol. 42, 135 - 153 (1969)

KINGSBURY, B.F.:

Development of the human pharynx.
Am. J. Anat. 18, 329 - 397 (1915)

LE DOUARIN, N., BARQ, G.:

Sur l'utilisation des cellules de la caille japonaise comme "marqueurs biologiques" en embryologie expérimentale.
C.r.hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris D 269, 1543 - 1546 (1969)

LE DOUARIN, N., TEILLET, M.A.:

Sur quelques aspects de la migration des cellules neurales chez l'embryon de Poulet étudiée par la méthode des greffes hétérospécifiques de tube nerveux.
C.R.Soc. Biol. 164, 390 - 399 (1970)

LE DOUARIN, N., TEILLET, M.A.:

L'origine des cellules du système ganglionnaire intramural du tractus digestif chez l'embryon d'Oiseau
C.R. Acad. Sci. 273, 1411 - 1414 (1971 a)

LE DOUARIN, N., TEILLET, M.A.:

Lokalisation, par la méthode des greffes interspézifiques, du territoire neural dont dérivent les cellules adrénales surrénaliennes chez l'embryon d'Oiseau.
C.R.Acad. Sci. Ser. D 272, 481 - 484 (1971 b)

LE LIÈVRE, C.:

Recherches sur l'origine embryologique des arcs viscéraux chez l'embryon d'Oiseau par la méthode des greffes interspécifiques entre Caille et Poulet.
C.R.Soc. Biol. 165, 395 - 400 (1971)

LE LIÈVRE, C.:

Rôle des cellules mésectodermiques issues des crêtes neurales céphaliques dans la formation des arcs branchiaux et du squelette viscéral.
J. Embryol. exp. Morph. 31, 453 - 477 (1974)

LE LIÈVRE, C., LE DOUARIN, N.M.:

Mesenchymal derivatives of the neural crest: Analysis of chimaeric quail and chick embryos.
J. Embryol. exp. Morph. 34, 125 - 154 (1975)

LE LIÈVRE, C.:

Participation of neural crest-derived cells in the genesis of the skull in birds.
J. Embryol. exp. Morph. 47, 17 - 37 (1978)

LEWIS, W.H.:

The development of the muscular system. Manual of Human Embryology.
Edited by Keibel and Mall 1, 454 - 522 (1910)

Mc KENZIE, J.:

The morphology of the sternomastoid and trapezius muscles.
J. Anat. 89, 526 - 531 (1955)

MOLLIER , S.:

Die paarigen Extremitäten der Wirbeltiere.
Anat. Hefte 5, 435 - 529 (1895)

MOSS, F.P., LEBLOND, C.P.:

Satellite cells as the sourceof nuclei in muscles of growing rats.
Anat. Rec. 170, 421 - 430 (1971)

NEAL, H.V.:

The development of the hypoglossus musculature in Petromyzium and Squalis.
Anat. Anz. 13, 441 - 463 (1897)

PATTEN, B.M.:

Human Embryology. Third Edition.
The Blakiston Division, Mc Graw-Hill Book Company, New York, Toronto, Sydney, London, 1969

PLATT, J.B.:

The development of the cartilaginous skull and of the branchial and hypoglossal musculature in necturus.
Morph. Jahr. 25, 377 - 464 (1897)

PONS-TORTELLA, E.:

Zur Entwicklung der Form und der Muskulatur der Zunge beim Menschen.
Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 105, 72 - 78 (1936)

ROMER, A.S.:

Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere.
3.Auflage, Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, 1971

SCHMALBRUCH, H.:

Entwicklung, Untergang und Regeneration von Skelettmuskelfasern.
Dtsch. med. Wschr. 105, 614 - 617 (1980)

SCHMALBRUCH, H., HELLHAMMER, U.:

The number of satellite cells in normal human muscle.
Anat. Rec. 185, 279 - 287 (1976)

SCHMALBRUCH, H., HELLHAMMER, U.:

The number of nuclei in adult rat muscles with special reference to satellite cells.
Anat. Rec. 189, 169 - 175 (1977)

SHELLSWELL, G.B.:

The formation of discrete muscles from the chick wing dorsal and ventral muscle masses in the absence of nerves.
J. Embryol. exp. Morph. 41, 269 - 277 (1977 a)

SHELLSWELL, G.B., WOLPERT, L.:

The pattern of the muscle and tendon development in the chick wing.
In: Vertebrate Limb and Somite Morphogenesis. (eds. D.A. Ede, J.R. Hinchliffe, M. Balls), pp. 71 - 86, Cambridge University Press, Cambridge, 1977 b

STARCK, D.:

Embryologie.
Ein Lehrbuch auf allgemein biologischer Grundlage.
3. Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1975

THEILER, K.:

Über die Differenzierung der Rumpfmyotome beim Menschen und die Herkunft der Bauchwandmuskeln.
Acta anat. 30, 842 - 864 (1957)

VAN BEMMELEN, J.F.:

Über die Herkunft der Extremitäten-und Zungenmuskulatur bei Eidechsen.
Anat. Anz. 4, 240 - 255 (1889)

WAGNER, G.:

Die Bedeutung der Neuralleiste für die Kopfgestaltung der Amphibienlarven.
Rev. Suisse Zool. 56, 519 - 620 (1949)

WESTON, J.A.:

The migration and localization of neural crest cells labelled with tritiated thymidine.
Am. Zool. 2, 458 (Abstract), (1962)

WESTON, J.A.:

A radioautographic analysis of the migration and localization of trunk neural crest cells in the chick.
Dev. Biol. 6, 279 - 310 (1963)

WORTHAM, R.A.:

The development of the muscles and tendons in the lower leg and foot of the chick embryos.
J. Morph. 83, 105 - 148 (1948)

7. Danksagung

Herrn Professor Dr. B. Christ danke ich ganz herzlich für die Überlassung des Themas und für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes innerhalb der Arbeitsgruppe für Experimentelle Embryologie. Vor allem danke ich ihm für die persönliche, außergewöhnlich engagierte Betreuung, sowie für seinen ermutigenden Zuspruch bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Dr. H.J. Jacob danke ich sehr für viele kritische Diskussionen und für hilfreiche Anregungen bei der Bewältigung von Problemen.

Frau U. Ritenberg, Herrn H. Hake und Frau I. Burks danke ich herzlich für sorgfältige histologische und phototechnische Arbeiten und für die gute Zusammenarbeit.

Frau B. Scharf danke ich für die Schreibarbeit bei der Anfertigung der Dissertation.

Frau B. Kuhlo danke ich besonders für die Übersetzung von fremdsprachlicher Literatur.

8. Lebenslauf

19. Mai 1951	Geburt als ältestes von drei Kindern des Kaufmannes Johann Konstantin Schemainda und seiner Ehefrau Katharina Schemainda, in Lübeck
April 1958	Einschulung in die Francke-Volksschule in Lübeck
April 1962	Eintritt in die Alte Stadtschule, Realschule für Jungen und Mädchen in Lübeck
August 1968	Beginn der Ausbildung zum Maschinenschlosser bei der Firma Orenstein und Koppel AG in Lübeck
Juli 1971	Abschluß der Ausbildung mit Erwerb des Facharbeiterbriefes
August 1972	Eintritt in das Westfalen-Kolleg Dortmund, Städtisches Institut zur Erlangung der Hochschulreife
Juli 1975	Reifeprüfung am Westfalen-Kolleg Dortmund
September 1975	Beginn des Medizinstudiums an der Ruhr-Universität Bochum
Februar 1978	Beginn mit den Arbeiten für die Dissertation bei Prof. Dr. med. B. Christ in der Arbeitsgruppe für Experimentelle Embryologie des Institutes für Anatomie der Ruhr-Universität Bochum
April 1982	Staatsexamen in Humanmedizin an der Ruhr-Universität Bochum

D. GRÄBNER
DISSERTATIONS U. OFFSETDRUCKEREI

Gotenstraße 3
8602 Altendorf bei Bamberg
Telefon: 09545/8791